TITRES

ET

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

De H. DELAUNAY

TITRES

TITRES ET SERVICES UNIVERSITAIRES

Préparateur Adjoint du Laboratoire de Physiologie (1905-1912).

Préparateur de la Station Biologique d'Arcachon (1905-1911).

Docteur en Médecine (1910).

Lauréat de la Faculté de Médecine :

Prix des Thèses (Médaille d'or, 1910).

Prix Gintrac et Prix Godard (1912).

Chargé des Fonctions d'Agrégé (Section Physiologie, 1911-1912, 1912-1913).

Agrégé des Facultés de Médecine (Section de Physiologie, 1913).

Chef du Laboratoire d'Hygiène, délégué dans les fonctions de Chef des Travaux pratiques (Décembre 1919).

Chimiste (Diplôme de la Faculté des Sciences, 1902).

Licencié ès Sciences (Certificat de Chimie générale, Chimie appliquée, Chimie physiologique, 1904).

Chargé des fonctions de Maître de Conférences à la Faculté des Sciences (Conférences de Chimie physiologique, 1922-1923, 1923-1924).

Officier de l'Instruction Publique (1922).

TITRES ET SERVICES MILITAIRES

Temps de présence aux Armées pendant la guerre : 3 ans et 11 mois.

Médecin Aide-Major de l'Ambulance 10/18 à la mobilisation.

Médecin-Major (1916).

Médecin-Chef de l'Ambulance 12/1-239, etc.

Une blessure (plaie par éclat d'obus), Arras, 16 octobre 1915.

Deux citations (Croix de Guerre) :

1° A l'Ordre du 17e Corps d'armée, 13 octobre 1915.

2° A l'Ordre de la Ve Armée, 23 septembre 1918.

Chevalier de la Légion d'Honneur, 16 juin 1920.

SOCIÉTÉS SAVANTES

Membre de la Société Scientifique d'Arcachon.

Membre de la Société des Sciences physiques et naturelles de Bordeaux.

Membre de l'Association française pour l'avancement des Sciences.

Membre de la Société de Chimie biologique de Paris (1914).

Membre correspondant de la Société de Biologie de Paris (1919).

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

I. — LISTE CHRONOLOGIQUE

1910

1. « *Contribution à l'étude du rôle des acides aminés dans l'organisme animal* ». — Thèse de doctorat en médecine, Bordeaux, 27 juillet, n° 70. Imprimerie Moderne A. Destout. Prix des thèses (1910) et Prix triennal des thèses (1912).

2. « *Dosage dans les tissus animaux de l'azote sous diverses formes* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX. Réunion biologique de Bordeaux, décembre.

3. « *Présence constante, en quantité variable, d'amino-acides dans les tissus animaux* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX. Réunion biologique de Bordeaux, décembre.

1911

4. « *Les acides aminés, leur rôle dans l'organisme* ». — Revue. *Biologie médicale*, n° de février.

5. « *L'élimination urinaire de l'azote* ». — Revue. *Biologie médicale*, n° de novembre.

1912

6. « *Recherches sur les échanges azotés des Invertébrés* ». — Mémoire ayant obtenu le Prix Godard, juillet. *Archives internationales de physiologie*, t. XIII, fasc. II, 1913, p. 126-165.

7. « *Sur l'azote restant du sang et du liquide cavitaire de quelques Invertébrés. Ses rapports avec l'azote protéique* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIII, p. 492.

1913

8. « *Sur la répartition de l'azote restant du sang et du liquide cavitaire de quelques Invertébrés* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 151.

9. « *Sur quelques faits particuliers à la répartition de l'azote dans le liquide cavitaire des Vers* (Aphrodite aculeata, Sipunculus nudus). — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 154.

10. « *Sur le dosage de l'azote restant dans le sang des Vertébrés* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 639.

11. « *Sur l'azote restant du plasma de quelques Vertébrés* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 641.

12. « *Sur l'azote restant du sang avant et pendant l'absorption intestinale de l'azote alimentaire* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 767.

13. « *Sur l'azote restant du sang avant et pendant l'absorption d'un mélange d'acides aminés introduits dans l'intestin* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 769.

14. « *Sur le rôle du foie dans les échanges azotés* ». — *Gazette hebd. des Sc. méd. de Bordeaux*, 13 avril, n° 15, p. 171.

1917

15. « *La Courbe oscillométrique ; son étude analytique.* » — *Gazette hebd. de Sc. méd. de Bordeaux*, 28 octobre.

1918

16. « *Courbe oscillométrique et détermination de la pression artérielle maxima* ». — *Gazette hebd. des Sc. méd. de Bordeaux*, 24 novembre.

17. « *Le sérum de Locke gommé en injection intra-veineuse ; dans le traitement de l'hypotension des hémorragies graves et du shock* » (*Bases physiologiques et expérimentales ; résultats cliniques*). — *Lyon chirurgical*, janvier-février.

18. « *Du mécanisme des troubles circulatoires dans le choc* » (*Essai physiologique*). — *Lyon chirurgical*, mars-avril.

1919

19. « *La zone auscultatoire des oscillations croissantes ; Etude physio-pathologique de sa surface et de son rapport* ». -- *C. R. Soc. Biol.*, 10 mai, t. 82, p. 470.

20. « *Le graphique oscillométrique poignet bras ; rapports normaux et pathologiques des deux courbes* ». — *C. R. Soc. Biol.*, 7 juin, t. 82, p. 623.

21. « *Recherches physio-pathologiques sur la circulation* ». — *Journ. de méd. de Bordeaux*, 25 juillet.

22. « *L'anachrotisme des oscillations supramaximales* ». — *Gazette hebd. des Sc. méd. de Bordeaux*, 24 août.

1920

23. « *L'exploration oscillométrique de la circulation ; le Graphique oscillo-auscultatoire poignet-bras* ». — *La Médecine*, septembre.

1921

24. « *De la répartition de l'azote non protéique dans l'organisme* ». — *C. R. Soc. Biol.*, 5 juillet, t. 85, p. 360.

1922

25. « *L'augmentation de l'activité autoprotéolytique et amino-acidogène du foie pendant le jeûne ; ses rapports avec l'origine endogène des acides aminés du sang* ». — *C. R. Soc. Biol.*, 7 novembre, t. 87, p. 1091.

1923

26. « *Sur l'arrêt des albumoses et des peptones par le foie* ». — *C. R. Soc. Biol.*, 6 mars, t. 88, p. 710.

27. « *Sur l'activité protéolytique et amino-acidogène de la rate* ». — *Ibidem*, p. 707.

28. « *Pasteur* ». — Conférence faite à la Faculté des Sciences, le 25 mai (publiée dans l'*Annuaire de l'Union Amicale des Anciens Elèves de l'Ecole de Chimie*).

1924

29. « *La Valeur alimentaire des Vins* ».

30. « *Hygiène des ouvriers du vin* ». — Communications au Congrès d'Hygiène publique britannique, 5 juin.

TRAVAUX EN PRÉPARATION

« *Recherches biochimiques sur l'excrétion azotée des Invertébrés* ». — Thèse de Doctorat ès Sciences.

THÈSES INSPIRÉES ET DIRIGÉES

A. Bernis. — « La répartition de l'azote urinaire dans quelques dermatoses dites diathésiques ». — Thèse de médecine, Bordeaux 1911.

J. Castets. — « L'Algidité traumatique ; son rôle dans la pathogénie du choc ». -- Thèse de médecine, Bordeaux 1919.

Manesse. — « Recherches sur la circulation sanguine dans quelques états psychopathiques ». — Thèse de médecine, Bordeaux, 1920.

J. Brel. — « Contribution expérimentale à l'étude de l'action de l'adrénaline sur les échanges azotés ». — Thèse de médecine, Bordeaux 1921.

E. Destelle. — « Le sérum gommé. Son emploi dans le traitement des hémorragies graves ». — Thèse de médecine, Bordeaux 1922.

II. — EXPOSÉ SOMMAIRE

Dans ce court exposé, il ne m'est possible que de donner un aperçu général des résultats les plus importants de mes recherches, sans entrer dans le détail des expériences.

Le problème de chimie physiologique que j'ai cherché à résoudre peut être ainsi formulé :

Quelles sont les transformations chimiques que subissent les matières azotées dans l'organisme animal?

Malgré le grand nombre des travaux, la nutrition azotée de la cellule animale est encore mal connue.

Mes travaux ont contribué à déterminer les transformations des protéiques au niveau des tissus, à saisir dans le sang les matériaux nécessaires à la réparation et à l'édification du protoplasma ; enfin, à suivre, pas à pas, les diverses étapes que subissent progressivement dans l'organisme, et en particulier dans le foie, les albumines alimentaires décomposées dans l'intestin.

Les faits nouveaux que j'ai fait connaître (1910) m'avaient conduit à donner une conception nouvelle du mécanisme des échanges azotés, qui a été reconnue exacte, et est actuellement classique. En particulier, les travaux de Van Slyke et de Folin (1913) sont arrivés aux mêmes conclusions que celles que j'avais déjà émises.

En 1920, j'ai pu reprendre l'étude de cet important problème et préciser, en particulier, le rôle du foie et de la rate dans les échanges azotés.

Les faits acquis à la science, que j'ai fait connaître le premier, sont les suivants :

1° Les organes des Vertébrés et Invertébrés renferment toujours, à l'état libre, une quantité notable d'acides aminés.

2° Le sang ou son homologue, le liquide de la cavité générale, contient toujours en petite quantité les mêmes corps.

3° Chez le chien, au cours de la digestion d'un repas de viande, le sang de la veine porte se charge d'acides aminés. Il en est de même du sang de la circulation générale ; mais la plus-value est beaucoup plus faible.

De ces faits fondamentaux, j'avais conclu à l'erreur de la théorie d'Abderhalden, alors classique, suivant laquelle la nourriture azotée des cellules serait représentée par les albumines du sérum sanguin.

Les échanges azotés sont plus simples. Ils s'effectuent par l'intermédiaire des acides aminés.

Ces corps libérés au cours de la protéolyse digestive sont absorbés par la muqueuse intestinale et passent dans le sang porte. Ils parviennent ainsi aux organes, qui les fixent et les utilisent. Le foie transforme l'excès des acides aminés ; il possède une fonction amino-acidolytique (formation d'urée, de glucose, etc).

J'ai montré, récemment (1922), que cette fonction s'exerce aussi chez l'animal à jeun. On trouve, en effet, dans son sang porte, une teneur plus forte en azote aminé que dans le sang sus-hépatique. Les organes digestifs (rate, pancréas, intestin grêle) ont toujours une teneur plus forte en azote aminé libre et combiné que les autres organes (que l'animal soit à jeun ou en digestion).

D'autres recherches poursuivies comparativement dans la série animale, chez les Invertébrés et chez les Vertébrés, m'ont fait admettre que le foie, ou son homologue, l'hépato-pancréas, ont encore un autre rôle vis-à-vis des acides aminés, celui de mettre en réserve ces corps, sous forme d'albumine qui est utilisée pendant le jeûne.

Le foie, capable de mettre en réserve et de décomposer les acides aminés, paraît en définitive se comporter vis-à-vis des albuminoïdes comme vis-à-vis des hydrates de carbone.

Il existe une fonction albuminogénique comparable à la fonction glycogénique.

En résumé, plusieurs points importants de la chimie physiologique des échanges azotés ont été éclaircis par mes recherches déjà publiées :

1° La nature des matériaux azotés absorbés par l'intestin ;

2° La nature des matériaux azotés utilisés par les cellules ;

3° Le rôle régulateur fondamental du foie et de l'hépatopancréas dans les échanges (décomposition et mise en réserve des acides aminés).

*
* *

Mes travaux en préparation se rapportent à la même question, celle du mécanisme chimique des échanges azotés.

Depuis plusieurs années, je poursuis, chez les Invertébrés, l'étude de l'excrétion azotée. Ce travail fera prochainement l'objet d'un long et important mémoire (Thèse de doctorat ès sciences).

On connaît actuellement assez bien la nature des déchets azotés contenus dans l'urine des Vertébrés (urée, ammoniaque, acide urique, etc...) Pour 100 d'azote total, la quantité d'azote indéterminé est environ de 10.

Chez les Invertébrés, il n'en est plus de même. Les données chimiques exactes font défaut et la question est très confuse. Cette lacune est tout à fait regrettable au point de vue de la physiologie générale, car il n'est pas douteux qu'une connaissance précise de ce stade simple et fondamental de l'excrétion azotée est nécessaire pour une juste interprétation des données acquises chez les êtres supérieurs. Bien des problèmes encore discutés (origine et formation de l'urée, de l'acide urique, etc...) peuvent tirer profit de cette étude de biochimie comparée.

L'étude de l'excrétion azotée des Invertébrés est particulièrement délicate, au point de vue chimique ; car ces êtres inférieurs n'excrètent qu'une petite quantité de matériaux azotés ; c'est surtout pour cette raison que les auteurs n'ont encore fait connaître que des résultats parcellaires.

En utilisant, d'une part, les nouvelles méthodes microchimiques, et d'autre part les ressources de la Station Biologique d'Arcachon, j'ai pu aborder le problème dans de bonnes conditions et lui donner une solution plus satisfaisante.

Les divisions de ce travail sont les suivantes :

1° Introduction. Etat actuel de nos connaissances sur l'excrétion azotée des Invertébrés.

2° Technique expérimentale et technique chimique.

3° Recherches chez les Echinodermes, les Vers, les Crustacés, les Mollusques.

4° Examen critique des faits expérimentaux ; leur interprétation au point de vue de la physiologie générale.

5° Résumé et conclusions.

6° Bibliographie.

Après avoir mis au point, non sans difficultés, une technique précise de dosage, dans l'eau de mer, de très petites quantités de corps azotés d'excrétion (urée, ammoniaque, azote aminé, acide urique, azote purique), j'ai conduit mes recherches de la façon suivante :

1° Dosage de l'azote d'excrétion, sous diverses formes, ainsi que de l'azote total (non protéique), dans l'eau de mer où ont séjourné quelques heures les animaux en expérience. Détermination du rapport de l'azote des éléments dosés à l'azote total non protéique.

Chez les quelques Invertébrés (Sépia, Maja) dont on peut recueillir l'urine, les dosages ont été faits directement, dans le liquide excrétion.

2° Mêmes recherches, toutes choses égales, dans le sang ou le liquide de la cavité générale. Etude comparée du liquide d'excrétion et du liquide cavitaire.

3° Dans le but de déterminer l'origine des produits d'excrétion : dosage de ces corps dans l'extrait désalbuminé des organes frais et des organes soumis à l'autolyse (nephridies, hépato-pancréas, muscle, organes génitaux).

Par ces recherches, j'ai déjà pu fixer, dans une large me-

sure (60 à 80 pour 100), la nature des principaux corps azotés excrétés par les Invertébrés.

Voici, à ce sujet, quelques faits nouveaux :

L'ammoniaque représente la forme principale de l'excrétion ; l'azote aminé est excrété en quantité notable.

L'excrétion de l'urée se fait dans une proportion assez faible.

L'excrétion de l'acide urique varie beaucoup, suivant les espèces. Il en est d'ailleurs de même pour les autres corps, mais dans une proportion bien moindre.

Quoique l'interprétation des faits soit délicate, je compte en tirer des conclusions intéressantes au point de vue de la biochimie comparée et de la physiologie générale.

IMPRIMERIE MODERNE, 8, RUE PAUL-BERT. — BORDEAUX.

TITRES

ET

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

De H. DELAUNAY

TITRES

TITRES ET SERVICES UNIVERSITAIRES

Préparateur Adjoint du Laboratoire de Physiologie (1905-1912).

Préparateur de la Station Biologique d'Arcachon (1905-1911).

Docteur en Médecine (1910).

Lauréat de la Faculté de Médecine :

Prix des Thèses (Médaille d'or, 1910).

Prix Gintrac et Prix Godard (1912).

Chargé des Fonctions d'Agrégé (Section Physiologie, 1911-1912, 1912-1913).

Agrégé des Facultés de Médecine (Section de Physiologie, 1913).

Chef du Laboratoire d'Hygiène, délégué dans les fonctions de Chef des Travaux pratiques (Décembre 1919).

Chimiste (Diplôme de la Faculté des Sciences, 1902).

Licencié ès Sciences (Certificat de Chimie générale, Chimie appliquée, Chimie physiologique, 1904).

Chargé des fonctions de Maître de Conférences à la Faculté des Sciences (Conférences de Chimie physiologique, 1922-1923, 1923-1924).

Officier de l'Instruction Publique (1922).

TITRES ET SERVICES MILITAIRES

Temps de présence aux Armées pendant la guerre : 3 ans et 11 mois.

Médecin Aide-Major de l'Ambulance 10/18 à la mobilisation.

Médecin-Major (1916).

Médecin-Chef de l'Ambulance 12/1-239, etc.

Une blessure (plaie par éclat d'obus), Arras, 16 octobre 1915.

Deux citations (Croix de Guerre) :

1° A l'Ordre du 17e Corps d'armée, 13 octobre 1915.

2° A l'Ordre de la Ve Armée, 23 septembre 1918.

Chevalier de la Légion d'Honneur, 16 juin 1920.

SOCIÉTÉS SAVANTES

Membre de la Société Scientifique d'Arcachon.

Membre de la Société des Sciences physiques et naturelles de Bordeaux.

Membre de l'Association française pour l'avancement des Sciences.

Membre de la Société de Chimie biologique de Paris (1914).

Membre correspondant de la Société de Biologie de Paris (1919).

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

I. — LISTE CHRONOLOGIQUE

1910

1. « *Contribution à l'étude du rôle des acides aminés dans l'organisme animal* ». — Thèse de doctorat en médecine, Bordeaux, 27 juillet, n° 70. Imprimerie Moderne A. Destout. Prix des thèses (1910) et Prix triennal des thèses (1912).

2. « *Dosage dans les tissus animaux de l'azote sous diverses formes* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX. Réunion biologique de Bordeaux, décembre.

3. « *Présence constante, en quantité variable, d'amino-acides dans les tissus animaux* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX. Réunion biologique de Bordeaux, décembre.

1911

4. « *Les acides aminés, leur rôle dans l'organisme* ». — Revue. *Biologie médicale*, n° de février.

5. « *L'élimination urinaire de l'azote* ». — Revue. *Biologie médicale*, n° de novembre.

1912

6. « *Recherches sur les échanges azotés des Invertébrés* ». — Mémoire ayant obtenu le Prix Godard, juillet. *Archives internationales de physiologie*, t. XIII, fasc. II, 1913, p. 126-165.

7. « *Sur l'azote restant du sang et du liquide cavitaire de quelques Invertébrés. Ses rapports avec l'azote protéique* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIII, p. 492.

1913

8. « *Sur la répartition de l'azote restant du sang et du liquide cavitaire de quelques Invertébrés* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 151.

9. « *Sur quelques faits particuliers à la répartition de l'azote dans le liquide cavitaire des Vers* (Aphrodite aculeata, Sipunculus nudus). — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 154.

10. « *Sur le dosage de l'azote restant dans le sang des Vertébrés* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 639.

11. « *Sur l'azote restant du plasma de quelques Vertébrés* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 641.

12. « *Sur l'azote restant du sang avant et pendant l'absorption intestinale de l'azote alimentaire* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 767.

13. « *Sur l'azote restant du sang avant et pendant l'absorption d'un mélange d'acides aminés introduits dans l'intestin* ». — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 769.

14. « *Sur le rôle du foie dans les échanges azotés* ». — *Gazette hebd. des Sc. méd. de Bordeaux*. 13 avril, n° 15, p. 171.

1917

15. « *La Courbe oscillométrique ; son étude analytique.* » — *Gazette hebd. de Sc. méd. de Bordeaux*, 28 octobre.

1918

16. « *Courbe oscillométrique et détermination de la pression artérielle maxima* ». — *Gazette hebd. des Sc. méd. de Bordeaux*, 24 novembre.

17. « *Le sérum de Locke gommé en injection intra-veineuse ; dans le traitement de l'hypotension des hémorragies graves et du shock* » (*Bases physiologiques et expérimentales ; résultats cliniques*). — *Lyon chirurgical*, janvier-février.

18. « *Du mécanisme des troubles circulatoires dans le choc* » (*Essai physiologique*). — *Lyon chirurgical*, mars-avril.

1919

19. « *La zone auscultatoire des oscillations croissantes ; Etude physio-pathologique de sa surface et de son rapport* ». -- *C. R. Soc. Biol.*, 10 mai, t. 82, p. 470.

20. « *Le graphique oscillométrique poignet bras ; rapports normaux et pathologiques des deux courbes* ». — *C. R. Soc. Biol.*, 7 juin, t. 82, p. 623.

21. « *Recherches physio-pathologiques sur la circulation* ». — *Journ. de méd. de Bordeaux*, 25 juillet.

22. « *L'anachrotisme des oscillations supramaximales* ». — *Gazette hebd. des Sc. méd. de Bordeaux*, 24 août.

1920

23. « *L'exploration oscillométrique de la circulation ; le Graphique oscillo-auscultatoire poignet-bras* ». — *La Médecine*, septembre.

1921

24. « *De la répartition de l'azote non protéique dans l'organisme* ». — *C. R. Soc. Biol.*, 5 juillet, t. 85, p. 360.

1922

25. « *L'augmentation de l'activité autoprotéolytique et amino-acidogène du foie pendant le jeûne ; ses rapports avec l'origine endogène des acides aminés du sang* ». — *C. R. Soc. Biol.*, 7 novembre, t. 87, p. 1091.

1923

26. « *Sur l'arrêt des albumoses et des peptones par le foie* ». — *C. R. Soc. Biol.*, 6 mars, t. 88, p. 710.

27. « *Sur l'activité protéolytique et amino-acidogène de la rate* ». — *Ibidem*, p. 707.

28. « *Pasteur* ». — Conférence faite à la Faculté des Sciences, le 25 mai (publiée dans l'*Annuaire de l'Union Amicale des Anciens Elèves de l'Ecole de Chimie*).

1924

29. « *La Valeur alimentaire des Vins* ».

30. « *Hygiène des ouvriers du vin* ». — Communications au Congrès d'Hygiène publique britannique, 5 juin.

TRAVAUX EN PRÉPARATION

« *Recherches biochimiques sur l'excrétion azotée des Invertébrés* ». — Thèse de Doctorat ès Sciences.

THÈSES INSPIRÉES ET DIRIGÉES

A. Bernis. — « La répartition de l'azote urinaire dans quelques dermatoses dites diathésiques ». — Thèse de médecine, Bordeaux 1911.

J. Castets. — « L'Algidité traumatique ; son rôle dans la pathogénie du choc ». -- Thèse de médecine, Bordeaux 1919.

MANESSE. — « Recherches sur la circulation sanguine dans quelques états psychopathiques ». — Thèse de médecine, Bordeaux, 1920.

J. BREL. — « Contribution expérimentale à l'étude de l'action de l'adrénaline sur les échanges azotés ». — Thèse de médecine, Bordeaux 1921.

E. DESTELLE. — « Le sérum gommé. Son emploi dans le traitement des hémorragies graves ». — Thèse de médecine, Bordeaux 1922.

1925

- Sur l'Excrétion azotée de la Seiche (Sepia officinalis)
  C. R. Soc. Biol. T 93. p 128
- Sur l'Excrétion azotée des Gasteropodes pulmonés.
  C R. Soc. Biol. T 93 p 626.
- Le Vomissement. — Biologie Médicale T XV. N° 6.
- Les Applications biologiques et physio pathologiques du symbole
  J. Médecine Bordeaux 10 Sept 1925.

II. — EXPOSÉ SOMMAIRE

Dans ce court exposé, il ne m'est possible que de donner un aperçu général des résultats les plus importants de mes recherches, sans entrer dans le détail des expériences.

Le problème de chimie physiologique que j'ai cherché à résoudre peut être ainsi formulé :

Quelles sont les transformations chimiques que subissent les matières azotées dans l'organisme animal?

Malgré le grand nombre des travaux, la nutrition azotée de la cellule animale est encore mal connue.

Mes travaux ont contribué à déterminer les transformations des protéiques au niveau des tissus, à saisir dans le sang les matériaux nécessaires à la réparation et à l'édification du protoplasma ; enfin, à suivre, pas à pas, les diverses étapes que subissent progressivement dans l'organisme, et en particulier dans le foie, les albumines alimentaires décomposées dans l'intestin.

Les faits nouveaux que j'ai fait connaître (1910) m'avaient conduit à donner une conception nouvelle du mécanisme des échanges azotés, qui a été reconnue exacte, et est actuellement classique. En particulier, les travaux de Van Slyke et de Folin (1913) sont arrivés aux mêmes conclusions que celles que j'avais déjà émises.

En 1920, j'ai pu reprendre l'étude de cet important problème et préciser, en particulier, le rôle du foie et de la rate dans les échanges azotés.

Les faits acquis à la science, que j'ai fait connaître le premier, sont les suivants :

1° Les organes des Vertébrés et Invertébrés renferment toujours, à l'état libre, une quantité notable d'acides aminés.

2° Le sang ou son homologue, le liquide de la cavité générale, contient toujours en petite quantité les mêmes corps.

3° Chez le chien, au cours de la digestion d'un repas de viande, le sang de la veine porte se charge d'acides aminés. Il en est de même du sang de la circulation générale ; mais la plus-value est beaucoup plus faible.

De ces faits fondamentaux, j'avais conclu à l'erreur de la théorie d'Abderhalden, alors classique, suivant laquelle la nourriture azotée des cellules serait représentée par les albumines du sérum sanguin.

Les échanges azotés sont plus simples. Ils s'effectuent par l'intermédiaire des acides aminés.

Ces corps libérés au cours de la protéolyse digestive sont absorbés par la muqueuse intestinale et passent dans le sang porte. Ils parviennent ainsi aux organes, qui les fixent et les utilisent. Le foie transforme l'excès des acides aminés ; il possède une fonction amino-acidolytique (formation d'urée, de glucose, etc).

J'ai montré, récemment (1922), que cette fonction s'exerce aussi chez l'animal à jeun. On trouve, en effet, dans son sang porte, une teneur plus forte en azote aminé que dans le sang sus-hépatique. Les organes digestifs (rate, pancréas, intestin grêle) ont toujours une teneur plus forte en azote aminé libre et combiné que les autres organes (que l'animal soit à jeun ou en digestion).

D'autres recherches poursuivies comparativement dans la série animale, chez les Invertébrés et chez les Vertébrés, m'ont fait admettre que le foie, ou son homologue, l'hépato-pancréas, ont encore un autre rôle vis-à-vis des acides aminés, celui de mettre en réserve ces corps, sous forme d'albumine qui est utilisée pendant le jeûne.

Le foie, capable de mettre en réserve et de décomposer les acides aminés, paraît en définitive se comporter vis-à-vis des albuminoïdes comme vis-à-vis des hydrates de carbone.

Il existe une fonction albuminogénique comparable à la fonction glycogénique.

En résumé, plusieurs points importants de la chimie physiologique des échanges azotés ont été éclaircis par mes recherches déjà publiées :

1° La nature des matériaux azotés absorbés par l'intestin ;

2° La nature des matériaux azotés utilisés par les cellules ;

3° Le rôle régulateur fondamental du foie et de l'hépatopancréas dans les échanges (décomposition et mise en réserve des acides aminés).

*
* *

Mes travaux en préparation se rapportent à la même question, celle du mécanisme chimique des échanges azotés.

Depuis plusieurs années, je poursuis, chez les Invertébrés, l'étude de l'excrétion azotée. Ce travail fera prochainement l'objet d'un long et important mémoire (Thèse de doctorat ès sciences).

On connaît actuellement assez bien la nature des déchets azotés contenus dans l'urine des Vertébrés (urée, ammoniaque, acide urique, etc...) Pour 100 d'azote total, la quantité d'azote indéterminé est environ de 10.

Chez les Invertébrés, il n'en est plus de même. Les données chimiques exactes font défaut et la question est très confuse. Cette lacune est tout à fait regrettable au point de vue de la physiologie générale, car il n'est pas douteux qu'une connaissance précise de ce stade simple et fondamental de l'excrétion azotée est nécessaire pour une juste interprétation des données acquises chez les êtres supérieurs. Bien des problèmes encore discutés (origine et formation de l'urée, de l'acide urique, etc...) peuvent tirer profit de cette étude de biochimie comparée.

L'étude de l'excrétion azotée des Invertébrés est particulièrement délicate, au point de vue chimique ; car ces êtres inférieurs n'excrètent qu'une petite quantité de matériaux azotés ; c'est surtout pour cette raison que les auteurs n'ont encore fait connaître que des résultats parcellaires.

En utilisant, d'une part, les nouvelles méthodes microchimiques, et d'autre part les ressources de la Station Biologique d'Arcachon, j'ai pu aborder le problème dans de bonnes conditions et lui donner une solution plus satisfaisante.

Les divisions de ce travail sont les suivantes :

1° Introduction. Etat actuel de nos connaissances sur l'excrétion azotée des Invertébrés.

2° Technique expérimentale et technique chimique.

3° Recherches chez les Echinodermes, les Vers, les Crustacés, les Mollusques.

4° Examen critique des faits expérimentaux ; leur interprétation au point de vue de la physiologie générale.

5° Résumé et conclusions.

6° Bibliographie.

Après avoir mis au point, non sans difficultés, une technique précise de dosage, dans l'eau de mer, de très petites quantités de corps azotés d'excrétion (urée, ammoniaque, azote aminé, acide urique, azote purique), j'ai conduit mes recherches de la façon suivante :

1° Dosage de l'azote d'excrétion, sous diverses formes, ainsi que de l'azote total (non protéique), dans l'eau de mer où ont séjourné quelques heures les animaux en expérience. Détermination du rapport de l'azote des éléments dosés à l'azote total non protéique.

Chez les quelques Invertébrés (Sépia, Maja) dont on peut recueillir l'urine, les dosages ont été faits directement, dans le liquide excrétion.

2° Mêmes recherches, toutes choses égales, dans le sang ou le liquide de la cavité générale. Etude comparée du liquide d'excrétion et du liquide cavitaire.

3° Dans le but de déterminer l'origine des produits d'excrétion : dosage de ces corps dans l'extrait désalbuminé des organes frais et des organes soumis à l'autolyse (nephridies, hépato-pancréas, muscle, organes génitaux).

Par ces recherches, j'ai déjà pu fixer, dans une large me-

sure (60 à 80 pour 100), la nature des principaux corps azotés excrétés par les Invertébrés.

Voici, à ce sujet, quelques faits nouveaux :

L'ammoniaque représente la forme principale de l'excrétion ; l'azote aminé est excrété en quantité notable.

L'excrétion de l'urée se fait dans une proportion assez faible.

L'excrétion de l'acide urique varie beaucoup, suivant les espèces. Il en est d'ailleurs de même pour les autres corps, mais dans une proportion bien moindre.

Quoique l'interprétation des faits soit délicate, je compte en tirer des conclusions intéressantes au point de vue de la biochimie comparée et de la physiologie générale.

IMPRIMERIE MODERNE, 8, RUE PAUL-BERT. — BORDEAUX.

RECHERCHES BIOCHIMIQUES SUR L'EXCRÉTION AZOTÉE DES INVERTÉBRÉS

INTRODUCTION

L'étude de la biochimie des invertébrés n'a pas obtenu jusqu'à présent, de la part des chercheurs, toute l'attention qu'elle mérite. Alors que les recherches chimiques et physiologiques, qui ont été faites chez les vertébrés sont innombrables, celles qui ont été consacrées aux invertébrés sont assez rares.

Cette constatation d'ordre général s'applique en particulier à une question qui nous préoccupe depuis longtemps, celle des mutations chimiques des matières azotées dans l'organisme animal.

Au cours de recherches antérieures, nous avons pu nous rendre compte des grands services que peut rendre la biochimie comparée à la physiologie générale. Elle est précieuse, en effet, et même indispensable, pour dégager des multiples et complexes réactions chimiques du fonctionnement cellulaire celles qui sont fondamentales.

Nous avons déjà beaucoup utilisé cette méthode, et nous lui devons en particulier d'avoir pu fixer de bonne heure le rôle important que jouent les acides aminés dans le métabolisme des protéiques.

En 1910, par la méthode au formol de SÖRENSEN, nous avons établi que, dans toute la série animale, chez les invertébrés comme chez les vertébrés, les acides aminés sont des *constituants cellulaires*.

Toute une série de recherches, dont on trouvera le détail dans nos publications, nous a conduit à des conclusions très voisines de celles qui ont été soutenues plus tard et indépendamment par VAN SLYKE.

Elles peuvent être ainsi résumées :

1° On sait que, sous l'action des sucs protéolytiques (ou par digestion endocellulaire chez quelques invertébrés), les aliments protéiques sont transformés, en grande partie, en acides aminés, que l'on considère actuellement, depuis les belles recherches de SCHUTZENBERGER et de FISCHER, comme les pierres basales de la grosse molécule protéique.

Les acides aminés ainsi mis en liberté sont absorbés; ils passent dans le sang ou le liquide cavitaire et parviennent au niveau des cellules, où ils sont fixés et utilisés.

La nourriture azotée des cellules n'est donc pas représentée, comme on l'a cru pendant longtemps, par « l'albumine circulante », mais par les acides aminés dont la présence est constante dans les liquides du milieu intérieur, dans le sang des vertébrés comme dans le liquide cavitaire des invertébrés.

2° Les acides aminés « constituants cellulaires » peuvent être utilisés de diverses façons. Ils ont soit un rôle plastique, soit un rôle énergétique. Dans le premier cas, ils contribuent à la formation et à la réparation du protoplasma, qui est essentiellement constitué, comme on sait, par des matières albuminoïdes. Dans le deuxième cas, ils sont dégradés. Le noyau carboné est utilisé comme source d'énergie, alors que le groupe aminé est transformé et excrété.

3° Le foie des vertébrés et l'hépato-pancréas des invertébrés paraissent jouer un rôle important dans l'utilisation de l'excès des acides aminés, provenant de la digestion, c'est-à-dire de ceux qui ne sont pas fixés et utilisés par les cellules.

Ces organes peuvent mettre en réserve ces acides aminés, par formation d'albumine de réserve, ou les utiliser après dégra-

dation comme source d'énergie (combustion du noyau carbone, formation de glycogène, etc.).

Cette conception du mécanisme intime des échanges azotés, qui a été acceptée par beaucoup de physiologistes, présente l'avantage d'être basée sur des faits. Elle aide à comprendre le double rôle, plastique et énergétique, de l'aliment protéique, qui se confond en définitive avec le double rôle fonctionnel des acides aminés « constituants cellulaires ».

Parmi les observations faites au cours de nos recherches, il en est une qui avait retenu plus particulièrement notre attention. Elle est à l'origine du présent travail.

Les organes des invertébrés (hépato-pancréas, muscle) sont plus riches en acides aminés que les organes similaires des vertébrés. Ainsi, la quantité d'azote aminé que l'on trouve dans les cœcums d'*Asterias rubens*, dans l'hépatopancréas et le muscle de *Maja squinado*, dans le foie et le muscle de *Sepia officinalis*, etc., est considérable. L'azote aminé peut atteindre jusqu'à 20 0/0 de l'azote total.

Cette constatation, associée à la donnée classique que, chez les vertébrés, l'azote des acides aminés se retrouve finalement dans l'urine sous forme d'urée, nous a fait rechercher, parmi les déchets azotés des invertébrés, l'importance relative de l'urée d'abord, puis de l'ammoniaque, que l'on considère comme un terme intermédiaire entre le groupement aminé et l'urée.

Nos recherches bibliographiques sur ce point particulier nous ayant montré que les données chimiques exactes sont très rares et que, d'une façon générale, la question de l'excrétion azotée des invertébrés a été tout à fait négligée au point de vue biochimique, nous avons entrepris, depuis plusieurs années, une série de recherches.

Nous nous sommes placé à un point de vue différent de celui de la plupart de nos devanciers. Nous n'avons pas cherché à caractériser parmi les déchets azotés des invertébrés, des corps azotés nouveaux, encore inconnus chez les vertébrés, tels que l'acide carcinurique des Crustacés, nous nous sommes borné, en nous basant sur les faits définitivement

acquis pour les vertébrés, à chercher la réponse aux questions suivantes :

1° Dans quelle mesure retrouve-t-on, parmi les excreta des invertébrés, les principaux déchets azotés solubles des vertébrés, c'est-à-dire ceux qui forment la partie principale (90 0/0 environ) de l'azote urinaire.

2° Dans quelle mesure les données qui paraissent acquises pour les vertébrés sur l'origine et le mécanisme chimique de formation de ces déchets sont-elles exactes pour les invertébrés ?

Le problème ainsi posé est encore très vaste. Bien des recherches seront nécessaires pour lui donner une solution satisfaisante. Il nous est possible de dire cependant que, conformément à notre idée directrice, les déchets de l'amino-acidolyse représentent bien, chez les invertébrés comme les vertébrés, la majeure partie de l'azote excrété. C'est là une des conclusions fondamentales de ce travail.

Nos recherches ont été conduites de la façon suivante :

Après avoir mis au point, non sans difficulté, une technique précise de dosage, dans l'eau de mer, de très petites quantités d'urée, d'ammoniaque, d'azote aminé, d'azote purique, d'acide urique, nous avons dosé ces divers déchets azotés dans les *liquides d'excrétion*, c'est-à-dire, le plus souvent, dans les liquides où avaient séjourné quelque temps les animaux en expérience.

Chez quelques invertébrés supérieurs (*Maja squinado, Sepia officinalis*), il est possible de recueillir directement un liquide que l'on considère comme de l'urine; nous l'avons étudié avec soin.

Afin de connaître la valeur relative de l'azote des déchets qui ont été dosés, nous avons toujours déterminé dans les liquides l'azote total non protéique, et établi le pourcentage de chacun des éléments dosés.

Toutes choses égales, les mêmes dosages ont été effectués après désalbumination dans le *sang* et le *liquide cavitaire*.

Cette étude était nécessaire, car, comme on sait, les liquides du milieu intérieur ont une double fonction : celle d'alimenter et aussi celle d'épurer l'organisme. D'autre part, en comparant les résultats obtenus pour les liquides d'excrétion à ceux des liquides internes, on peut avoir d'utiles indications, non seulement sur le chimisme, mais aussi sur le mécanisme physiologique de l'excrétion.

En vue de rechercher l'origine des déchets azotés, nous avons poussé plus loin notre investigation. Nous avons cherché à saisir *in situ* les déchets azotés, en dosant ces corps dans l'extrait désalbuminé des organes frais (hépato-pancréas, muscle, néphridies, etc.). Cette étude nous a donné des renseignements intéressants à ce sujet; elle nous a permis, en outre, de prendre part à des discussions souvent confuses sur la fonction excrétrice de certains organes.

Quoiqu'il ne soit pas certain que les actions chimiques qui se produisent au cours de l'autolyse soient identiques à celles qui se manifestent pendant la vie, nous avons dosé, toutes choses égales, par rapport aux organes frais, les déchets azotés contenus dans les organes soumis à l'autodigestion. Cette étude nous a donné, elle aussi, quelques indications précieuses sur l'origine de certains déchets azotés.

Enfin, les échanges azotés affectant, comme on sait, un rapport intime avec le échanges hydrocarbonés, puisque le noyau carboné de certains acides aminés peut aisément se transformer en glucose et en glycogène, nous avons été souvent conduits à doser le glycogène dans les organes frais, afin de rechercher s'il n'existait pas, chez les invertébrés, un certain rapport entre la formation de glycogène et l'uréogenèse.

Même ainsi limitées, nos recherches, commencées depuis plusieurs années, ont été très longues et très délicates. Bien qu'elles ne soient pas terminées, elles sont cependant assez avancées pour nous permettre d'en faire connaître les principaux résultats dont l'intérêt physiologique nous paraît évident.

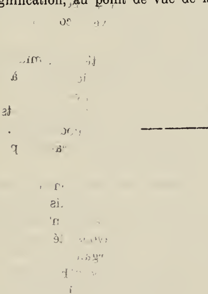
La division de notre travail est la suivante :

Le chapitre premier comprend un aperçu historique de notre sujet. Le chapitre II est consacré à l'exposé détaillé de la

technique qui a été utilisée pour la récolte du matériel d'étude et le dosage des déchets azotés.

Dans le chapitre troisième, nous faisons l'exposé analytique des résultats obtenus par nos devanciers et par nous-même pour les divers invertébrés que nous avons étudiés. Nous avons suivi l'ordre zoologique, c'est-à-dire étudié successivement l'excrétion azotée des Echinodermes, des Vers, des Crustacés et des Mollusques.

Enfin, nous basant d'une part sur les faits déjà acquis et d'autre part sur les faits nouveaux que nous avons pu mettre en évidence, nous essayons, dans le dernier chapitre, par un examen critique de toutes ces données, d'en dégager la signification, au point de vue de la physiologie générale.



CHAPITRE PREMIER

APERÇU HISTORIQUE

En 1862, dans ses *Leçons sur la Physiologie et l'Anatomie comparée de l'homme et des animaux* (t. VII, p. 448), H. Milne Edwards, étudiant la composition de l'urine des animaux invertébrés (paragr. 21), s'exprime ainsi : « Ainsi que j'ai déjà eu l'occasion de le dire, l'excrétion de l'acide urique a été constatée chez les Mollusques et les Insectes, mais nous ne savons encore que fort peu de chose sur les autres substances qui se trouvent dans l'urine de ces animaux.

« Chez les Insectes, les matières excrétées de la sorte affectent souvent la forme de petites concrétions et contiennent de l'acide urique libre, ainsi que des urates. M. Sirodot y a trouvé aussi de l'oxalate de chaux.

« Les excréments des Scolopendres contiennent de l'urate d'ammoniaque, et par conséquent, l'acide urique doit être considéré comme un des produits de la sécrétion urinaire des Myriapodes.

« L'urine des Araignées paraît contenir de la guanine, et MM. Gorup-Besanez et Will pensent que cette matière existe aussi dans les organes verdâtres de l'écrevisse, dont j'ai déjà eu l'occasion de parler comme étant peut-être des glandes urinaires.

« Les expériences chimiques dont les matières excrétées par les glandes rénales ou corps de Bojanus des Mollusques, ont été l'objet, nous ont appris qu'en général il y existe de l'acide urique; mais, chez quelques Acéphales, ce principe paraît manquer et être remplacé soit par de l'urée, ou par une substance qui s'en rapprocherait beaucoup, soit par de la guanine.

« Nous ne savons presque rien concernant la nature chimique des excrétions, qui, suivant toute probabilité, représentent la sécrétion urinaire chez les Vers et chez les Zoophytes. »

H. Milne Edwards distingue quatre formes principales de l'urine dans le règne animal : 1° l'*urine uréenne* secrétée par l'homme, les mammifères omnivores et carnassiers et quelques autres vertébrés; 2° l'*urine hippurique* des Mammifères herbivores; 3° l'*urine urique*, fournie par les Oiseaux, la plupart des Reptiles, les Insectes; 4° l'*urine guanique*, qui paraît exister chez les Arachnides et quelques autres animaux invertébrés.

Dans son *Traité de Chimie physiologique comparée des animaux inférieurs* (1902), Otto V. Furth a exposé avec soin toutes les recherches déjà faites sur l'excrétion dans les divers groupes d'invertébrés. Il donne (p. 302) un aperçu sur la nature chimique des déchets azotés. « En ce qui concerne, dit-il, le chimisme de l'excrétion des animaux les plus inférieurs, on ne sait rien de précis. On pense avoir démontré la présence d'acide urique chez les Protozoaires, de guanine chez les Cœlentérés et les Vers, mais les observations, à ce sujet, ne sont pas probantes. Chez les Echinodermes seulement, on arrive à une base plus sûre; déjà on trouve, chez ces êtres, de l'acide urique. Il est intéressant de constater, au point de vue biologique, que la dégradation de l'albumine dans l'organisme d'un être aussi peu organisé que le « seewalze », par exemple, paraît conduire finalement au même déchet que celui qui se forme dans le métabolisme d'un vertébré.

« Nous retrouvons encore de l'acide urique dans la classe des Mollusques, mais, fait curieux, il n'existe pas chez tous. Il existe seulement chez les Gastéropodes et les Céphalopodes; il paraît faire défaut régulièrement chez les Lamellibranches.

« Il n'est pas démontré que, chez ces êtres, l'acide urique soit remplacé par de la guanine; il semble, toutefois, que celle-ci puisse parfois remplacer, chez les Gastéropodes, la substance qui est transformée en acide urique.

« Chez les Céphalopodes, on n'a pas trouvé de guanine, mais une autre substance appartenant aux corps puriques, l'hypoxanthine, qui, avec l'ammoniaque et une autre substance acide de nature indéterminée, forme une notable partie de l'azote excrété.

« L'urée, dont on a signalé la présence chez les Lamellibranches et aussi chez d'autres Mollusques, chez plusieurs Arthropodes, n'a pas été trouvée chez les Céphalopodes, mais il est nécessaire de bien faire remarquer que, jusqu'ici, dans aucun cas, la preuve exacte de la présence d'urée chez un invertébré n'a été fournie.

« Dans la classe des Arthropodes, la présence d'acide urique n'est pas constante. Alors que l'acide urique est le produit principal d'excrétion des Insectes et des Myriapodes, il paraît faire défaut, d'une façon constante, pour les Crustacés, chez lesquels un corps particulier, l'acide carcinurique, doit jouer, avec la guanine, le rôle le plus important dans les échanges... »

L'auteur ne manque pas de signaler l'insuffisance de nos connaissances et d'exprimer l'espoir que la question soit reprise à l'aide de procédés d'investigation plus exacts.

On trouvera encore un exposé d'ensemble de la question dans les revues plus récentes et bien documentées de R. Burian, sur l'excrétion des Protozoaires, Cœlentérés, Echinodermes, Vers et Tuniciers (1910), de R. Burian et A. Muth, sur l'excrétion des Crustacés (1914) et de J. Strolh, sur l'excrétion des Mollusques (1914), parues dans le *Traité de physiologie comparée* de Hans Winterstein. De la lecture de ces revues se dégage encore la même impression d'incertitude en ce qui concerne la question qui nous occupe.

***

Nous plaçant maintenant au point de vue chimique plutôt qu'au point de vue zoologique, il nous semble utile de faire

connaître les principaux travaux qui se rapportent exactement à notre sujet, c'est-à-dire ceux qui sont relatifs : 1° à la présence d'urée, d'ammoniaque, d'acide urique et de corps puriques dans l'organisme et les excreta des invertébrés; 2° à la valeur relative de ces corps parmi les déchets azotés; 3° à leur origine et au mécanisme de leur formation.

URÉE.

Chez la plupart des vertébrés (à l'exception des Oiseaux et des Reptiles), l'urée est le produit principal de la désassimilation des matières protéiques, puisque les huit dixièmes de l'azote de ces matières sont éliminés sous cette forme. Aussi bien, les recherches qui ont été faites pour déterminer l'origine et le mécanisme de formation de ce corps sont-elles très nombreuses. Il ne nous est pas possible d'en faire un exposé même sommaire; il nous suffira de dire qu'on admet actuellement que l'urée se forme en grande partie dans le foie, à partir des acides aminés et de l'ammoniaque, qu'elle passe dans le sang et est rapidement excrétée par le rein. Les fonctions, uréopoiétique et amino-acidolytique, du foie sont intimement liées. Ce point de vue, que j'ai soutenu en 1910, a été reconnu exact par Van Slyke.

Il est probable qu'une petite quantité d'urée se forme ailleurs que dans l'organe hépatique, mais les précisions manquent à ce sujet.

On sait aussi que, grâce à son grand pouvoir de diffusion, l'urée imprègne en quelque sorte tout l'organisme. On a pu aisément, en effet, à l'aide des techniques modernes en effectuer le dosage, non seulement dans le sang, mais au sein des organes.

En ce qui concerne les invertébrés, nos connaissances sont très sommaires.

Nous avons vu qu'en 1903, Otto v. Furth estimait qu'aucune preuve évidente de la présence d'urée chez ces êtres n'avait encore été fournie. Dans un travail récent (1922), St. J. Przylecki a écrit : « C'est une opinion généralement admise par les physiologistes que les invertébrés n'excrètent pas

d'urée. » Il a été ainsi conduit à rechercher chez ces êtres la présence et la répartition de l'uréase.

Sans tenir compte des recherches anciennes, dont la valeur a été discutée à cause du peu de sensibilité des techniques qui étaient alors utilisées, il nous semble cependant que, depuis le travail de L. Sanzo (1907), dans lequel le lecteur trouvera un bon exposé des recherches anciennes, depuis nos recherches sur les échanges azotés des invertébrés (1913), et surtout depuis les recherches de R. Fosse (1913), la question peut être considérée comme résolue dans le sens affirmatif.

L. Sanzo a utilisé la méthode à l'hypobromite de soude, qu'il a modifiée en vue de lui donner une sensibilité convenable. Afin d'éliminer toutes les substances autres que l'urée susceptibles de dégager de l'azote en présence d'hypobromite, il a fait subir à ses matériaux d'étude (sang, tissus et liquides viscéraux) un traitement approprié.

C'est ainsi que les liquides sont tout d'abord additionnés de leur volume d'alcool absolu, laissés au repos 12 à 24 heures et filtrés. Le filtrat alcoolique est concentré dans le vide à 40° jusqu'à très faible volume (4 à 5 ccm.). Ce liquide résiduel est traité par l'alcool absolu pour éliminer les sels minéraux susceptibles de gêner le dosage. Après filtration, le liquide est évaporé à siccité; le résidu est dissous dans l'eau distillée (10 ccm.). Afin de le débarrasser d'un grand nombre de substances azotées (ammoniaque, bases puriques, peptones, etc.), le liquide est traité par l'acide phosphotungstique. Le précipité PhW est éliminé par centrifugation. Le liquide clair qui contient l'urée est débarrassé de l'excès de réactif par addition de baryte, de l'excès de baryte par CO^2. L'azote titrable à l'hypobromite est enfin dosé à l'aide d'une uréomètre très sensible. La prise d'essai doit être telle que le volume d'azote dégagé ne soit pas inférieur à 0,5 ccm.

A l'aide de cette technique, L. Sanzo a mis en évidence la présence constante de petites quantités d'urée dans le sang et les organes des invertébrés qu'il a étudiés. Dans le liquide cavitaire des Echinodermes, il a trouvé, en moyenne, pour 100 ccm., chez *Holothuria tubulosa :* 0,91 mgr.; chez *Sphære-*

chinus granularis : 3,29 mgr. Dans le sang de *Maja squinado* : 3,83 mgr.; de *Palinurus vulgaris*, 6,59 mgr. Le liquide périviscéral d'*Aplysia punctata* contient en moyenne 1,95 mgr.

La quantité moyenne d'urée contenue dans 100 gr. d'organe est plus considérable; elle varie suivant l'organe étudié. Voici quelques chiffres à ce sujet :

Foie. . .	*Aplysia punctata.* . .	13,01 mgr.
	Sepia officinalis.	42,09 —
	Palinurus vulgaris . .	21,89 —
Muscle. .	*Loligo vulgaris.*	4,03 —
	Palinurus vulgaris. .	6,27 —

Chez les Mollusques et les Crustacés, l'urée est plus abondante dans le foie que dans les muscles. Le foie de la Seiche qui est carnivore est plus riche en urée que celui de l'Aplysie, qui est herbivore.

Sans être affirmatif, l'auteur pense que, chez les invertébrés, l'urée se forme dans le foie, comme chez les vertébrés.

Malgré toutes les précautions qu'il a prises, L. Sanzo n'est pas absolument certain que le corps qu'il a dosé à l'hypobromite soit de l'urée. Le corps isolé a bien donné les réactions de l'urée (réaction de Lasseigne, etc.), mais la quantité obtenue n'a pas été suffisante pour l'analyse élémentaire.

La même réserve s'applique à mes recherches (1913). J'avais dosé, en effet, l'urée dans le sang ou le liquide cavitaire des invertébrés en utilisant la méthode à l'hypobromite modifiée par Sanzo et établi le rapport de l'azote titrable à l'hypobromite à l'azote non protéique total. Le liquide cavitaire des Echinodermes ne contient qu'une petite quantité d'azote uréique. Pour 100 ccm :

Asterias rubens : 0,2 mgr. à 1,2 mgr.

Strongylocentratus lividus : 0,4 mgr.

Dans le sang des Crustacés (*Maja squinado*), l'azote uréique est en quantité plus grande : 1,7 à 4,2 mgr. Le plasma de *Sipunculus nudus* contient 0,8 mgr. à 1,7 mgr., etc.

Le rapport de l'azote titrable à l'hypobromite à l'azote total non protéique est d'environ 31,5 pour l'Astérie, 13,6 pour le Siponcle, et de 12,5 pour l'Araignée de mer.

Si les recherches de L. SANZO, comme les miennes, peuvent être critiquées, puisqu'il n'est pas absolument démontré que l'azote titrable à l'hypobromite est bien de l'azote uréique, par contre celles de R. FOSSE (1913) ne laissent aucun doute, à mon avis, sur la présence constante d'urée dans l'organisme et les excreta des invertébrés.

Toutefois, l'auteur s'étant contenté de recherches qualitatives, ses résultats, quel que soit leur intérêt, ne permettent pas de répondre à une des questions qui nous intéresse : la part relative de l'urée parmi les déchets des invertébrés.

R. FOSSE a pu isoler l'urée grâce à sa combinaison spécifique avec le xanthydrol. Il a obtenu la combinaison dixanthylée avec les extraits alcooliques et les sucs cellulaires débarrassés des protéiques d'un grand nombre d'invertébrés terrestres ou marins : Etoile de mer, Sangsue, Ecrevisse, Langouste, Mouche, Escargot, Huître, Moule, etc. Il a pu aussi retirer la combinaison dixanthylée de l'eau de source ou de mer dans laquelle avaient vécu plus ou moins longtemps certains animaux.

La recherche et le dosage de l'urée par l'uréase n'a été effectuée jusqu'ici, à ma connaissance, que par R. G. MYERS (1920). Dans sa courte note, où les travaux antérieurs sont passés sous silence, l'auteur étudie la répartition de l'azote non protéique dans le sang de quelques invertébrés, et détermine en particulier le rapport de l'azote uréique à l'azote non protéique total.

Dans 100 ccm. de sang d'Oursin, il a trouvé 0,92 mgr. d'azote uréique pour 8,6 mgr. d'azote non protéique (Rapport : 11 0/0). Dans le sang des Etoiles, le même rapport est variable (22 à 62 0/0). Il en est de même pour le sang des mollusques et du seul Crustacé (*Cancer productus*) que l'auteur a étudié. L'auteur conclut néanmoins que la valeur moyenne du rapport est de 10 à 20 0/0.

AMMONIAQUE

Chez les vertébrés, l'ammoniaque est présente dans tous les organes et dans le sang (NENCKI et PAWLOW, 1896; SALASKIN et ZALESKI, 1902). Il en est de même pour les invertébrés, ainsi que je l'ai déjà fait connaître (1910-1913). On admet que, chez

les vertébrés, elle est transformée en urée, dans toute la mesure où elle n'est pas utilisée pour la neutralisation des acides, si bien que, chez l'homme, à l'état normal, l'azote ammoniacal excrété représente seulement 2 à 5 0/0 de l'azote total urinaire, alors que l'azote uréique atteint et dépasse 80 0/0.

Il n'existe encore que peu de données précises sur l'excrétion ammoniacale des invertébrés. Cependant, l'idée de l'importance de cette excrétion n'a pas échappé à certains auteurs. C'est ainsi que R. Burian, dans son article sur l'excrétion des Vers, s'étonne que J. Lesser n'ait trouvé dans les liquides d'excrétion des Vers de terre que des traces d'ammoniaque, vu que non seulement chez les autres Vers (*Ascaris*, *Hirudo*), mais encore d'une façon générale chez les invertébrés, l'ammoniaque occupe quantitativement une place importante parmi les déchets azotés (Note p. 330).

Cependant, O. Cohnheim (1901) a conclu de ses recherches chez les Echinodermes, que les Holothuries, les Astéries et les Ophiures n'excrètent pas d'ammoniaque.

Chez les Vers, J. Lesser n'a trouvé dans les excreta de *Lumbricus* que des traces d'ammoniaque. E. Weinland (1904) estime chez *Ascaris* que l'azote ammoniacal représente environ un tiers de l'azote total excrété.

A. Putter (1908) et K. Bialaszewicz (1919) ont étudié avec soin l'excrétion azotée de la Sangsue. L'azote de l'ammoniaque constitue 40 à 80 0/0 de l'azote excrété.

Pour les Céphalopodes, Otto v. Furth, étudiant l'urine d'*Octopus vulgaris*, estime que le rapport de l'azote ammoniacal est de 21 à 27 0/0.

Dans un récent travail (1922), qui a pour titre *L'excrétion ammoniacale chez les invertébrés dans les conditions normales et pathologiques*, St. J. Przylecki, après avoir signalé les grandes variations qui existent dans l'excrétion de NH^3 chez les invertébrés, en a recherché la cause. D'après ses recherches, l'ammoniaque aurait, chez les êtres, le même rôle de neutralisation que chez les vertébrés.

ACIDE URIQUE.

Parmi les déchets azotés, l'acide urique est un des plus intéressants. Dans la série des vertébrés, son excrétion, ainsi que son origine et son mécanisme de formation, ont été bien étudiés.

Dans l'urine de l'homme, le rapport de l'azote de l'acide urique à l'azote total est d'environ 1,5 à 2 0/0. Il diminue pour l'urine d'autres Mammifères (Chien, Chat, Lapin, Porc, Bœuf), par suite de la transformation de l'acide urique en allantoïne. Cette transformation est le fait d'une diastase oxydante, l'uricase, que l'on trouve surtout dans le foie.

Dans l'urine des Oiseaux et des Reptiles, l'acide urique tient la place qu'occupe l'urée dans l'urine des mammifères. 66 à 70 0/0 de l'azote total sont contenus dans l'acide urique et 8 à 18 0/0 dans l'ammoniaque, pour l'urine de l'Oie.

Le mécanisme de formation de l'acide urique n'est pas le même chez les vertébrés. Alors que chez les mammifères, il se forme *par oxydation* des corps provenant de la rétrogradation des nucléoprotéides, qui sont, comme on sait, les constituants essentiels des noyaux cellulaires; chez les Oiseaux et les Reptiles, il se forme surtout *par synthèse* dans le foie à partir de l'ammoniaque, produit de dégradation des albumines, et de l'acide lactique.

Chez les invertébrés, un assez grand nombre d'auteurs ont recherché sa présence, et quelques-uns seulement son origine. Nous avons déjà vu que, depuis longtemps, la présence d'acide urique a été signalée dans les tubes de Malpighi des Insectes, l'organe de Bojanus des Gastéropodes, les organes urinaires des Céphalopodes. Dans ces organes, on trouve facilement, en effet, des concrétions cristallines, dont il est facile de reconnaître la nature urique à l'aide du microscope ou de réactions telles que celle de la murexide, très souvent utilisée.

Il n'en est plus de même pour les autres invertébrés, et la question de la présence ou de l'absence de ce déchet azoté est loin d'être résolue.

Marchal (1889), dans un important travail, a donné la

bibliographie complète des travaux parus sur la question et montré les contradictions de ses devanciers.

Il conclut de ses recherches et de celles déjà publiées, que l'acide urique n'a pu être découvert chez les Spongiaires, les Cœlentérés, les Echinodermes et les Vers. Dans la classe des Arthropodes, la sécrétion de l'acide urique est à peu près générale chez les Insectes et les Myriapodes. Exceptionnelle chez les Arachnides, elle semble faire défaut chez les Crustacés. Dans la classe des Mollusques, la sécrétion de l'acide urique, générale chez les Gastéropodes pulmonés, est extrêmement rare chez les Acéphales. D'après l'auteur, lorsque la sécrétion de l'acide urique est nulle ou accessoire, elle est remplacée par un autre processus de désassimilation : « La désassimilation des substances albuminoïdes, dit-il, se fait alors sous forme de bases organiques, véritables alcaloïdes animaux (guanine, leucomaïne, etc.). L'existence dans les produits de désassimilation de ces substances, qui nous ont été révélées par les belles recherches de A. GAUTIER, est donc un fait général et semble même un processus plus constant et plus important chez les invertébrés que chez les vertébrés. »

A. SULIMA (1913) a apporté une contribution importante à la question du métabolisme de l'acide urique des animaux inférieurs. Pour la recherche de l'acide urique dans l'organisme des invertébrés, il a employé deux procédés. Le premier consiste à dissoudre l'animal entier ou ses organes dans la plus petite quantité possible d'une solution bouillante de soude à 3 0/0. Le liquide, versé dans une fiole de 500 ccm., est additionné d'acide chlorydrique en excès et d'eau bouillante contenant de l'urée. Filtrer à chaud. L'acide urique est recherché dans le filtrat par la méthode de SALKOWSKI-LUDWIG modifiée. Le deuxième procédé est le suivant : on verse le matériel à étudier dans une grande quantité d'acide chlorydrique à 2 0/0, et l'on chauffe le tout pendant deux heures, après addition d'urée. L'acide urique est dosé dans le liquide après séparation par filtration de la partie insoluble. Il a pu ainsi reconnaître la présence d'acide urique chez *Anemonia sulcata* et *Microcosmus vulgaris*. Il n'a pu, par contre, déceler sa présen-

ce chez *Holothuria tubulosa*, *Stichopus regalis*, *Sipunculus nudus*, *Cardium tuberculatum* et *Mytilus edulis*.

En outre, chez quelques autres invertébrés, A. Sulima a fait des recherches quantitatives intéressantes, afin de déterminer le mode de formation (par oxydation ou par synthèse) de l'acide urique.

Ayant constaté que le foie d'*Aplysia limacina* contient une quantité notable d'acide urique, l'auteur a soumis la bouillie de l'organe à l'autodigestion (digestion en présence de chloroforme à 39° pendant quelques heures). Il a constaté, dans ces conditions, une augmentation de l'acide urique. En ajoutant au macéré de l'asparagine, du glycocolle, du malonate de soude plus urée, il a constaté de même une forte augmentation, alors que l'addition de xanthine ne produit aucune plus-value. Il conclut que l'acide urique se forme dans le foie de l'Aplysie *par synthèse*, aux dépens des produits de la dégradation des protéiques, de la même façon que dans le foie des Reptiles et des Oiseaux.

Le foie de Poulpe ne contient pas trace d'acide urique. Que l'autodigestion du macéré de l'organe soit faite en présence d'oxygène ou non, il ne se forme pas d'acide urique. Le résultat est le même lorsqu'on ajoute au macéré du malonate de soude plus urée, du glycocolle ou de l asparagine. L'auteur conclut que, dans l'organisme du Poulpe, il ne paraît pas se produire de l'acide urique, soit par oxydation, soit par synthèse. Il pense, comme Burian, que les concrétions uriques que l'on trouve dans l'urine proviennent vraisemblablement des dicyémides qui habitent l'organe urinaire.

L'hépato-pancréas de *Maja squinado* contient une quantité notable d'acide urique. N'ayant pas eu à sa disposition une quantité suffisante de matériel, l'auteur n'a pu déterminer exactement son mode de formation. Il a vu toutefois que la quantité d'acide urique contenu dans le macéré d'organe augmente nettement lorsqu'il est soumis à l'autolyse. Il en est de même lorsqu'on ajoute au macéré, soumis trois heures à l'autodigestion, de l'asparagine, du malonate de soude plus urée, du glycocolle. Lorsque l'autodigestion est faite, en présence

de xanthine, dans les mêmes conditions, la teneur en acide urique n'augmente pas. L'acide urique se formerait donc surtout par synthèse.

Plus récemment, R. G. MYERS (1920), qui ne paraît pas avoir eu connaissance des recherches de A. SULIMA, est arrivé, en étudiant le sang des invertébrés, à la même opinion. Il a trouvé, en effet, dans le sang d'un Crabe (*Cancer productus*), une quantité d'acide urique (4,7 mgr. pour 100 ccm.), bien supérieure à celle des autres invertébrés qu'il a étudiés et même de l'homme (0,7 à 3,7 mgr. pour 100 ccm.). Il pense, d'après cette seule observation, que le métabolisme du Crabe est très voisin de celui des Reptiles et des Oiseaux.

Enfin, S. MORGULIS (1922) a dosé l'acide urique, ainsi que l'azote non protéique, dans le sang de quelques Crustacés. Le sang des Homards et des Araignées contient une quantité notable et assez fixe d'acide urique (2 à 3 mgr. p. 100 ccm.), alors que le sang d'autres crustacés (*Blue Crabs*) n'en contient que lorsque l'animal est en bon état de nutrition.

Il existe donc actuellement quelques données précises sur la présence et l'origine de l'acide urique, mais la question reste encore assez confuse et mérite d'être reprise.

PURINES

Nous avons vu que, chez l'homme, l'acide urique est formé par oxydation à partir des produits de dégradation des nucléines ,en particulier des corps puriques. Sous l'action de diastases, les aminopurines (adénine, guanine) sont transformées en oxypurines (xanthine, hypoxanthine). Aussi la guanase (W. JONES et C. PARTRIDGE, 1904) est le ferment soluble qui transforme la guanine en xanthine; l'adénase (W. JONES et WINTERNITZ, 1905) transforme l'adénine en hypoxanthine. Enfin, par l'intermédiaire de diastases oxydantes, la xanthine et l'hypoxanthine se transforment en acide urique, qui est le produit principal de l'excrétion des purines chez l'homme. Alors que l'azote de l'acide urique représente, en effet, 1,5 à 2,0 0/0 de l'azote urinaire total, l'azote des bases puriques ne constitue environ que 0,3 0/0 (MAILLARD, 1908).

L'opinion que les corps puriques jouent un rôle très important dans l'excrétion des invertébrés a été souvent soutenue. Déjà, en 1862, H. Lacaze-Duthiers avait signalé chez ces êtres l'existence d'une *urine guanique*, et le nombre des auteurs qui ont trouvé de la guanine dans l'organisme des invertébrés est assez considérable.

Dans son article sur l'excrétion des Vers, R. Burian (p. 359), après avoir signalé l'existence très fréquente de granulations puriques dans les organes excréteurs des Annelides (nephridies, tissus excrétophores) remarque, au point de vue de la physiologie générale, que, vu la quantité importante des « purin-granula », il est difficile d'admettre que ces produits d'excrétion proviennent de la dégradation des nucléoprotéides. Il pense que ces granulations ont plutôt pour origine une transformation par synthèse des produits de la dégradation des protéiques, qu'elles se formeraient, somme toute, par un processus analogue à celui que nous avons déjà rencontré pour la formation de l'acide urique dans le foie des Reptiles et des Oiseaux.

S'il n'est pas douteux que l'organisme de certains invertébrés est souvent imprégné par des déchets de nature purique et qûe, comme pour les vertébrés inférieurs (J. Millot, 1923), leur pigmentation a souvent pour origine un dérivé purique, ces observations ne permettent pas, toutefois, de conclure, comme tendent à le faire certains auteurs, à une excrétion purique principale des déchets azotés.

Les résultats obtenus par la recherche des bases puriques dans les organes, par voie chimique ou histochimique (Réaction de Courmont et André, de Ciacco, d'Achucarro) permettent, peut-être, de conclure à la fonction excrétrice de l'organe étudié, mais ils ne nous renseignent pas exactement sur l'importance relative de l'excrétion purique. Les corps puriques, en effet, y compris l'acide urique, sont bien moins solubles que les autres déchets azotés; ils peuvent s'accumuler aussi bien « par défaut d'excrétion » que par « excès de formation ».

Aussi bien, nous plaçant surtout au point de vue physiologique, nous ne rapporterons que les rares recherches faites sur

la teneur en N purique des excreta solubles ou insolubles des invertébrés.

Chez les Echinodermes, je n'ai trouvé à ce sujet aucun renseignement; chez les Vers, J. LESSER n'a pas trouvé, dans les excreta des Vers de terre, une quantité dosable d'azote purique. PUTTER, analysant l'eau dans laquelle avaient vécu 300 Sangsues pendant 100 heures, a trouvé dans le liquide, débarrassé du mucus, 1,4 mgr. d'N purique pour 80 mgr. d'N total.

Chez les Mollusques, dans l'urine d'*Octopus vulgaris*, OTTO V. FURTH (1900) a signalé la présence d'hypoxanthine. Il évalue à 0,08 gr. environ l'hypoxanthine contenue dans un litre d'urine, c'est-à-dire une quantité qui dépasse notablement la quantité de bases puriques contenues dans l'urine des mammifères.

Chez les Crustacés, dans l'urine de *Maja squinado*, MARCHAL a trouvé une substance qui présente quelques-unes des réactions des corps xanthiques, mais qui en diffère par son acidité, à laquelle il a donné le nom provisoire d'« acide carcinurique ».

L'exposé sommaire qui vient d'être fait aurait pu recevoir de plus amples développements, sans grand bénéfice toutefois, puisque nous aurons l'occasion, à propos de nos recherches personnelles, de faire, pour chaque invertébré, l'exposé des recherches antérieures. Il suffit à bien mettre en évidence non seulement l'insuffisance de nos connaissances actuelles, mais encore toute la complexité de la question.

CHAPITRE II

TECHNIQUE

I. — Animaux étudiés

Grâce à la proximité de la Station Biologique d'Arcachon, et surtout au dévouement de son personnel, la récolte de nos matériaux d'étude s'est faite dans de bonnes conditions. Chaque fois que cela a été utile, nos observations et nos expériences ont pu être faites aussitôt après la capture des animaux.

Nous avons choisi de préférence les espèces communes, afin de pouvoir plus facilement vérifier nos résultats et aussi de pouvoir, le cas échéant, étendre les recherches.

Les espèces étudiées ont une alimentation très différente. Les unes (Astérie, Seiche, Sangsue, etc.), sont essentiellement carnivores; d'autres sont herbivores (Aplysie, Escargot, Limace); d'autres se nourrissent des matériaux nutritifs contenus dans le sable et la terre (Holothurie, Siponcle, Ver de terre, etc.); d'autres, enfin, comme les Lamellibranches, trouvent leur alimentation dans les matières en suspension dans l'eau de mer.

La plupart sont des espèces marines, mais quelques-unes sont terrestres.

Voici le nom de ces diverses espèces :

1° ECHINODERMES :

Astérias rubens L.
Paracentrotus lividus LAMARCK;
Holothuria tubulosa GMELIN.

2° VERS :

Sipunculus nudus L.
Aphodite aculeata L.
Hirudo officinalis L.
Lumbricus agricola HOFFM.

3° CRUSTACÉS :

Maja squinado ROND.
Carcinus mœnas L.
Astacus fluviatilis ROND.

4° MOLLUSQUES :

A) Lamellibranches :
Gryphœa angulata LAMARCK.
Mya arenaria L.
Mytilus edulis L.

B) Céphalopodes :
Sepia officinalis L.

C) Gastéropodes :
Aplysia limacina L.
Helix pomatia L.
Limax agrestis L.

II. — Récolte des matériaux d'étude.

A. — RÉCOLTE DES DÉCHETS AZOTÉS SOLUBLES, ÉVACUÉS DANS LE MILIEU EXTÉRIEUR.

Chez les vertébrés supérieurs, cette récolte ne présente aucune difficulté. L'urine, en effet, que l'on peut recueillir aisément et en abondance, contient la presque totalité des déchets

azotés. La quantité des matériaux azotés de désassimilation, qui est excrétée par la voie intestinale est si peu importante que, pratiquement, l'étude des constituants azotés de l'urine suffit à renseigner sur la désassimilation azotée.

Chez quelques invertébrés supérieurs seulement, il est possible de recueillir un liquide que l'on considère comme analogue à l'urine des vertébrés. Dans quelles proportions renferme-t-il les excreta azotés ? Il est difficile de le dire. Quoi qu'il en soit, chaque fois que cela a été possible, nous l'avons recueilli et analysé avec soin.

Pour récolter l'urine de *Maja squinado*, je me suis servi, avec quelques modifications, du procédé qui a été donné par P. Marchal (1892).

L'animal étant renversé et maintenu par un aide, on soulève avec des pinces l'opercule mobile comme une charnière, qui recouvre les canaux d'excrétion. L'on y introduit doucement et peu profondément une petite canule en verre à bords rodés, s'adaptant exactement à l'ouverture. Le liquide monte de lui-même dans la canule, car il est contenu sous faible pression dans la vessie. La canule ne doit pas être enfoncée profondément, sinon on risque de perforer la cavité générale et de récolter de l'urine mélangée à beaucoup de sang, ce dont on est averti par l'aspect et la coloration du liquide.

A l'aide d'un petit raccord en caoutchouc, la canule est reliée à une seringue de 10 ccm. Il suffit d'aspirer peu à peu pour vider la vessie. On vide de même l'autre vessie.

Ainsi que l'avait déjà signalé P. Marchal, on obtient en quantité assez abondante (10 à 15 ccm. pour une *Maja* de 500 gr.) un liquide clair comme l'eau de mer, qui ne contient, le plus souvent, que quelques éléments en suspension. Cependant, à Noirmoutiers, en recueillant l'urine de douze animaux qui avaient séjourné quelque temps dans les bacs de l'Herbaudière, j'ai retiré, à deux reprises, un liquide coloré en vert. Je signale simplement le fait, n'ayant pas eu assez de liquide pour faire des recherches.

La récolte faite, on introduit aussitôt dans le liquide des cristaux d'acide trichloracétique (1 gr. pour 100 ccm.), et l'on

agite fortement. L'albumine que contient le liquide en petite quantité se précipite peu à peu. Lorsque le précipité est bien formé, on filtre et l'on ajoute ensuite au filtrat acide un peu de chloroforme pour assurer sa conservation.

Pour recueillir le liquide urinaire de *Sepia officinalis*, il est utile, pour avoir une bonne récolte, d'opérer sur des animaux de grande taille. L'animal vivant est placé sur sa face dorsale et maintenu par un aide. On ouvre la cavité palléale en incisant largement le manteau sur la ligne médiane. On découvre entièrement la masse viscérale en réclinant les bords du manteau. A droite et à gauche du rectum apparaissent les deux orifices des glandes urinaires. Une très petite incision est faite au dessous de l'un de ces orifices, par laquelle on introduit dans les volumineux sacs urinaires l'extrémité d'un compte-gouttes. Il est facile de retirer par aspiration le liquide qu'ils contiennent (2 à 6 ccm. pour une Seiche de moyenne taille). Ce liquide, souvent trouble, contient en suspension, comme l'a depuis longtemps signalé Paul BERT (1867), des cristaux d'un beau rouge.

Au contact de l'air, il reste incolore ou blanchâtre. S'il est mélangé à un peu de sang, il bleuit et doit être rejeté.

Assez riche en albumine, comme l'avaient déjà signalé Paul BERT, OTTO v. FURTH, nous l'avons dilué de moitié avant de le désalbuminer, dans les mêmes conditions que pour l'urine précédente.

Pour tous les autres invertébrés étudiés, la récolte directe d'un liquide urinaire n'a pas été possible. D'ailleurs, chez presque tous, l'excrétion est très diffuse; plusieurs organes y participent, si bien que, pour capter les déchets, il faut avoir recours à une méthode indirecte.

Nous avons utilisé la seule technique possible, qui, d'ailleurs, entre les mains d'autres auteurs (R. FOSSE, J. LESSER, PUTTER), a déjà donné des renseignements intéressants. Il faut cependant prendre beaucoup de précautions pour éviter les causes d'erreur.

Elle consiste à placer les animaux marins dans un cristalli-

soir et à les faire vivre quelque temps sous une mince couche d'eau de mer ou d'eau douce, souvent renouvelée.

Le renouvellement de l'eau (toutes les 8 heures environ) empêche le contact prolongé de l'animal avec ses excreta. D'autre part, la faible épaisseur de la couche d'eau assure une plus grande surface de contact avec l'air, c'est-à-dire une aération maxima. Dans ces conditions, les animaux vivent bien et longtemps.

Même ainsi conduites, nos expériences ne sont pas à l'abri de critiques. Plusieurs causes d'erreur peuvent en vicier les résultats ,dont il y a lieu d'examiner maintenant l'importance.

La première est relative à l'altération possible sous l'action de microorganismes, des déchets azotés évacués par l'animal, en particulier la transformation de l'urée en ammoniaque.

Nous nous sommes assuré, par des expériences témoins, qu'à la température où ont été faites nos recherches (15° au maximum), l'urée n'est pas transformée. On dissout une petite quantité d'urée (10 mgr.) dans 500 ccm. d'eau de mer, et l'on plonge dans cette eau, pendant quelques minutes, les animaux d'étude. L'eau, conservée à 15°, renferme encore, après 24 heures, l'urée qui a été ajoutée.

La deuxième cause d'erreur est plus difficile à éviter. L'eau dans laquelle ont vécu les animaux contient, en effet, non seulement les véritables déchets azotés, c'est-à-dire ceux qui proviennent du fonctionnement cellulaire, mais aussi les corps azotés d'origine alimentaire, qui n'ont fait que traverser le tube digestif, sans être absorbés.

Ces derniers sont d'ailleurs mélangés à de vrais déchets d'origine intestinale, car la fonction excrétrice de l'intestin des invertébrés paraît avoir une importance plus grande encore que celle des vertébrés.

Cette cause d'erreur est surtout à prendre en considération pour les animaux qui absorbent une grande quantité de sable ou de terre pour s'alimenter. On peut l'éviter dans une certaine mesure par l'étude comparée des liquides d'excrétion

des animaux en pleine digestion et des animaux laissés à jeun un temps suffisant pour que leur intestin soit vidé.

Enfin, une troisième cause d'erreur reste à examiner : dans quelle mesure l'azote excrété sous forme volatile (ammoniaque, amines) peut-il être entraîné dans l'atmosphère et échapper ainsi à l'analyse chimique ?

Nous nous sommes assuré que la très petite quantité d'ammoniaque excrétée en huit heures reste entièrement dissoute dans le liquide qui n'est pas agité et dont la température ne dépasse pas 15°.

Aussitôt après avoir été recueillis, les liquides sont filtrés, puis acidifiés par addition de cristaux d'acide trichloracétique (1 gr. pour 100 ccm.) et agités. Il se produit un trouble plus ou moins intense dû à la présence de traces d'albumine, dont il est difficile de connaître l'origine. Elle peut aussi bien provenir de la peau de l'animal (mucus, etc.) que d'une excrétion de l'albumine plasmatique.

Le liquide, abandonné au repos quelque temps, est filtré jusqu'à obtention d'un filtrat clair et limpide, qui est additionné de chloroforme pour assurer sa conservation.

La récolte des déchets azotés de certains invertébrés terrestres (Gastéropodes pulmonés, Vers de terre) diffère un peu de celle des invertébrés marins, dont nous venons de parler.

Les animaux, bien lavés, sont placés dans un cristallisoir contenant seulement quelques ccm. d'eau de source. Ils sont lavés toutes les huit heures environ, afin d'entraîner les excreta. Les liquides recueillis sont traités comme il a été déjà dit.

Pour abréger, nous appellerons ces divers liquides : liquides d'excrétion.

B. — Récolte des déchets azotés contenus dans les liquides du Milieu Intérieur.

Nous avons déjà signalé la difficulté de distinguer dans les liquides d'excrétion les véritables déchets azotés des matériaux d'origine alimentaire évacués par l'intestin. Il n'en est plus de

même pour les excreta contenus dans le sang ou le liquide cavitaire, de telle sorte que, qualitativement tout au moins, l'étude chimique de ces matériaux donnera des renseignements complémentaires utiles, sinon indispensables, au point de vue chimique.

Au point de vue physiologique, l'étude comparative des déchets azotés contenus dans les liquides cavitaires et les liquides d'excrétion n'est pas moins intéressante. Elle permet, en effet, d'aborder un problème du plus haut intérêt biologique, sur lequel il n'existe encore que bien peu de documents, celui de la puissance de sélection élective et de concentration des appareils excréteurs des invertébrés.

La récolte des déchets comprend deux opérations distinctes :

1° La récolte du sang ou du liquide cavitaire;

2° La préparation des liquides désalbuminés.

Je serai bref en ce qui concerne le premier point, car j'ai déjà indiqué, en 1913, la technique utilisée pour recueillir chez quelques invertébrés les liquides du milieu intérieur.

Le liquide cavitaire des Astéries est obtenu facilement par section de l'extrémité d'un bras, l'animal étant placé verticalement au-dessus d'un verre à pied; celui des Oursins, par section de la membrane péribuccale; celui des Holothuries, par incision du tégument, en évitant soigneusement toute lésion du tube digestif.

Le liquide des Vers (Siponcle, Aphrodite) s'écoule par incision du tégument dans une région où l'on ne risque pas de léser l'intestin.

Pour recueillir le sang de l'Araignée de mer, on brise une des dernières pattes. Après l'autotomie on introduit une canule en verre dans la plaie. Le sang de Seiche a été recueilli à l'aide d'une petite canule en verre introduite dans l'artère dorsale. Le sang d'Escargot est recueilli au niveau du cœur, chez l'animal débarrassé en partie de sa coquille, après incision du péricarde. Nous avons aussi recueilli l'eau des Huîtres, etc.

Aussitôt après avoir été recueillis, les liquides sont filtrés ou

centrifugés, pour les débarrasser des éléments figurés en suspension. Le plasma ainsi obtenu est désalbuminé par l'acide trichloracétique.

Lorsque les liquides contiennent peu d'albumine, la désalbumination est faite comme pour les liquides d'excrétion (addition directe de cristaux d'acide trichloracétique, etc.).

Lorsque le plasma est chargé d'albumine, il est dilué de moitié avant la désalbumination. Les filtrats acides, qui doivent être clairs et limpides, sont additionnés d'une petite quantité de chloroforme, pour assurer leur conservation.

Dans quelques cas, nous avons préparé l'extrait désalbuminé du liquide total (plasma et éléments figurés). Ces cas particuliers seront signalés à leur place.

C. — Récolte des déchets azotés contenus dans les Organes frais et autolysés.

1° *Organes frais.* — Aussi souvent que possible, les extraits désalbuminés des organes (hépato-pancréas, muscle, glande génitale, néphridie, etc.), ont été préparés immédiatement après le sacrifice de l'animal. Toutefois, lorsque les circonstances ne nous ont pas permis de faire sur place les manipulations, nous avons conservé les organes en les fixant dans une quantité suffisante d'alcool à 90° bouillant, la désalbumination étant pratiquée ensuite le plus tôt possible. La nécessité de fixer l'organe dans de l'alcool bouillant nous est apparue dès nos premières recherches. Certains organes, en effet, riches en diastases protéolytiques (foie de Seiche, par exemple), sont capables de s'autolyser en milieu alcoolique.

Pour la préparation de l'extrait désalbuminé, il suffit d'avoir à sa disposition un mortier en porcelaine, du sable lavé, de l'eau distillée bouillante, une solution d'acide trichloracétique à 20 0/0 et une série de fioles jaugées.

Soit un organe qu'il est facile d'avoir en quantité (hépatopancréas de Crustacé, par exemple), les manipulations sont les suivantes :

Avant d'être pesé, l'organe est essoré avec du papier filtre.

On en pèse 8 grammes que l'on introduit dans le mortier avec du sable lavé. On broye le plus finement possible, puis on verse une petite quantité d'eau bouillante. Agiter, laisser déposer et décanter le liquide surnageant. On broye de nouveau, puis on verse de l'eau bouillante, etc. Ces opérations sont renouvelées jusqu'à épuisement total des matières solubles. Il ne doit finalement rester dans le mortier qu'un résidu insoluble. Les liquides, qui ont été versés dans un grand verre à expérience, au fur et à mesure de la décantation, sont introduits dans une fiole jaugée de capacité suffisante (200 ccm.) et l'on ajoute 20 ccm. de la solution d'acide trichloracétique à 20 0/0. Agiter, compléter à 200 ccm. après refroidissement, et filtrer. 25 ccm. du filtrat contiennent les déchets azotés de 1 gr. d'organe.

Le plus souvent, le filtrat est clair et limpide. Il ne doit pas contenir d'albumine. Pour s'en assurer, on verse dans un tube à essai 5 ccm. du filtrat et 10 gouttes de réactif de Tanret. Le liquide, porté à 100°, doit rester clair et limpide. Lorsqu'il contient des peptones, il se trouble par refroidissement.

Malgré des filtrations répétées, certains extraits, qui ne contiennent pas d'albumine, restent plus ou moins troubles. Il en est ainsi lorsqu'ils contiennent beaucoup d'albumoses ou de peptones. Ces corps s'insolubilisent en partie et forment à la longue un léger dépôt dont il est facile de reconnaître la nature par la réaction du biuret.

Les extraits désalbuminés des organes riches en glycogène présentent une opalescence tout à fait caractéristique.

Suivant les cas, quelques modifications de détail ont dû être faites à la technique.

Ainsi, l'épuisement du muscle est assez difficile, et la quantité d'eau nécessaire pour l'épuiser est plus grande, de telle sorte que l'extrait désalbuminé est moins concentré.

Il arrive souvent que, même en sacrifiant de nombreux animaux, on ne puisse obtenir qu'un gramme et même moins d'organe. Les manipulations restent les mêmes, toutes choses égales, etc.

Chez quelques invertébrés très petits, nous avons seulement préparé l'extrait désalbuminé de l'animal entier, ce qui nous a permis de prendre rapidement une vue d'ensemble des déchets azotés de l'animal.

La préparation des extraits, à partir des organes fixés dans l'alcool, ne présente rien de particulier, si ce n'est qu'avant le broyage l'alcool est décanté, versé dans une petite capsule de porcelaine, acidifié légèrement avec de l'acide acétique dilué, pour éviter le dégagement d'ammoniaque, et évaporé à 60°. Le résidu repris par l'eau chaude est ajouté aux liquides de décantation.

Avant de terminer ce paragraphe, il nous reste à dire que, quelquefois, nous n'avons pu peser l'organe, ce qui ne nous a pas permis de rapporter les résultats à 100 grammes. Les rapports gardent cependant leur intérêt.

2° *Organes autolysés.* — L'autolyse terminée, la préparation de l'extrait est faite comme celle des organes frais. Le seul point que nous avons donc maintenant à préciser est relatif aux conditions dans lesquelles a été faite l'autolyse.

Nous n'avons pas étudié les divers facteurs susceptibles de modifier l'autolyse, c'est-à-dire l'action de l'aération, des conditions de milieu, des sels, de la température, etc. Quel que soit l'intérêt de cette question, son étude dépasse le cadre de nos recherches.

Les conditions dans lesquelles a été faite l'autodigestion des organes étudiés ont été les suivantes :

L'organe pesé (5 à 10 gr.) est placé dans un petit vase cylyndrique de Bohême (50 ccm.) stérilisé, dans lequel on verse 10 ccm. envoron d'eau de mer ou d'eau salée physiologique, suivant que l'invertébré est marin ou terrestre. Après addition de chloroforme (1 à 2 ccm.) et agitation, le vase est bouché à l'ouate puis avec un capuchon de caoutchouc, et porté à l'étuve à 38° pendant 24 heures. Dans quelques cas, qui seront signalés, l'autolyse a dû être faite à la température du laboratoire.

III. — Recherches chimiques

Nous préciserons avec soin les détails de la technique chimique qui a été utilisée, car c'est d'elle, en définitive, ainsi que de la technique déjà étudiée, relative à la récolte des déchets azotés, que dépend la valeur des faits nouveaux qui seront mis en évidence, sur lesquels sont basées en grande partie nos conclusions.

Les analyses ont porté presque exclusivement sur les matières azotées contenues dans les divers liquides désalbuminés. Toutefois, nous avons dosé aussi, assez souvent, l'azote total (protéique et non protéique) et le glycogène contenus dans les organes frais.

A. — Données générales; Essais préliminaires.

Dans les liquides d'excrétion et dans les liquides cavitaires, il n'est pas aisé de déterminer avec précision la répartition de l'azote non protéique, et d'établir ainsi le rapport de chaque corps azote dosé à l'azote total. C'est vraisemblablement pour cette raison que R. G. Myers (1920) a signalé dans le sang de certains invertébrés une variation considérable du rapport de l'azote uréique à l'azote total. Par exemple, chez les Astéries, ce rapport variait de 22 à 62 0/0, etc.

Etant donnée la très petite quantité d'azote contenue dans 100 cc. de liquide cavitaire désalbuminé (4 à 12 mgr.) et la quantité encore plus faible contenue dans les liquides d'excrétion (0,5 à 2,0 mgr.), il est évident que les moindres causes d'erreur ont une importance considérable, d'autant plus que les corps azotés sont dissous le plus souvent dans de l'eau de mer, très riche en sels minéraux qui peuvent gêner les dosages.

Aussi, avant de commencer notre étude, nous avons dû mettre au point une technique adaptée à nos recherches.

Dans ce but, nous avons fait de longs et nombreux essais préliminaires, sur le détail desquels il nous paraît inutile d'insister. En voici le principe : une même urine (5 ccm.) est diluée à 200 ccm., d'une part, avec de l'eau distillée, d'autre part,

avec de l'eau de mer; on essaye comparativement sur les deux liquides les méthodes microchimiques actuellement en usage pour le dosage des constituants de l'azote non protéique du sang; la technique est modifiée jusqu'à obtention de résultats satisfaisants.

L'idée directrice qui nous a guidé dans ces recherches est la suivante : opérer le plus possible le dosage des divers corps azotés « toutes choses égales », c'est-à-dire avec une même liqueur titrée afin d'obtenir la plus grande sécurité dans l'établissement des rapports.

Finalement, nous avons adopté la méthode au formol, déjà recommandée par RONCHÈSE, qui nous a permis de réaliser cette condition dans une large mesure, puisque, à l'exception de l'azote de l'acide urique, qui a été dosé colorimétriquement, nous avons pu titrer au formol l'azote de tous les autres corps azotés, soit directement, soit après isolement et transformation de leur azote en ammoniaque par la méthode de KJELDHAL.

B. — DOSAGE AU FORMOL DE TRÈS PETITES QUANTITÉS D'AZOTE AMMONIACAL (0.03 à 3.0 MGR.).

Pour transformer la méthode de titration au formol en méthode microchimique, il est nécessaire de lui faire subir quelques modifications en vue de la sensibiliser.

Le matériel est le suivant: 1° une microburette de 5 ccm.,dont chaque ccm. est divisé en 20 parties; 2° une solution de baryte titrée, dont 1 ccm. correspond exactement à 0,3 mgr. d'N; 3° une solution de formol purifiée et exactement neutralisée; 4° une solution alcoolique de phtaléine du phénol à 1 0/0.

La purification préalable de la solution commerciale de formol est très utile, car, si l'on emploie directement la solution commerciale neutralisée par de la baryte, les impuretés qu'elle contient provoquent souvent un trouble qui gêne le dosage. Dans ce but, on verse dans un litre de la solution commerciale 10 ccm. de phtaléine, un peu de chlorure de baryum pulvérisé, et de la baryte en poudre en quantité suffisante pour obtenir

la teinte rouge. Le liquide est agité et laissé au repos quelques heures. Il se forme un précipité dont on se débarrasse par filtration. Le filtrat est ramené à la décoloration par addition de quelques gouttes d'HCl N. S'il se forme, avec le temps, un dépôt, on s'en débarrasse par décantation. Avant son emploi, la solution de formol doit être claire et limpide, le virage à la teinte rose doit se faire nettement, à une goutte près de solution de baryte titrée.

La liqueur titrée de baryte est préparée de la façon suivante :

On part d'une solution d'oxalate pur d'ammoniaque, contenant 0,3 mgr. d'N pour 1 ccm., obtenue en dissolvant 1 gr. 522 d'oxalate dans un litre d'eau distillée, et d'une solution diluée de baryte (N/45 environ).

Dans un ballon de 200 ccm., on introduit 5 ccm. de la solution d'oxalate, 20 ccm. d'eau distillée, et 1 ccm. de lessive de soude. On distille et l'on recueille tout l'ammoniaque dans 2 à 3 ccm. d'HCl N/20 contenus dans un bécher de 100 cc. (forme haute). La distillation terminée, on titre l'ammoniaque au formol, après neutralisation exacte.

Dans ce but, on ajoute au liquide X gouttes environ de phtaléine, puis, par petites affusions, de la baryte saturée (contenue dans un compte-gouttes Auché) jusqu'à teinte rouge. On revient juste à la décoloration avec quelques gouttes d'HCl N/20. Pour avoir une neutralisation exacte (à une goutte près), on verse quelques gouttes de la solution de baryte à titrer contenue dans la microburette, jusqu'à obtention d'une légère teinte rose, qu'il est facile de saisir sur fond blanc, à la lumière du jour.

Dans la solution exactement neutralisée, contenant l'ammoniaque sous forme de chlorydrate, on verse un excès (5 à 10 ccm.), de la solution purifiée de formol, qui a été exactement neutralisée de la même manière; on verse ensuite peu à peu en agitant la solution de baryte a titrer, contenue dans la burette. On note exactement le volume de baryte employé pour l'obtention d'une teinte rose nette. Soit 4,5 ccm. par exemple.

Pour obtenir la solution titrée de baryte correspondant, volume à volume, à la solution d'oxalate d'ammoniaque, il suffira, comme on sait, de diluer convenablement la solution de baryte et de contrôler la dilution par un nouveau dosage.

Nous avons un peu insisté sur les détails de cette titration, car, somme toute, tous nos dosages au formol, à l'exception, toutefois, de celui de l'azote aminé, ont été effectués de la même façon.

La plupart d'entre eux ont été effectués après transformation en ammoniaque de l'azote du composé étudié, par la méthode de Kjeldhal. Dans ces conditions, pour cette méthode comme pour les autres, il est indispensable de s'assurer, au préalable, de la pureté des réactifs (acide sulfurique, lessive de soude) qui doivent être exempts d'ammoniaque.

A côté de cette cause d'erreur, il en existe une autre qui est inhérente à la méthode au formol, mais qu'il est facile d'éviter.

On sait, en effet, que les sels d'ammoniaque agissent sur la phénolphtaléine en retardant l'apparition de la teinte rose, d'où une légère erreur par défaut. Si l'on prend soin de ne titrer au formol que des quantités d'azote égales ou inférieures à 10 ccm. de baryte titrée, la cause d'erreur est négligeable. Pour les quantités de baryte supérieures à 5 ccm., il est d'ailleurs facile, en suivant les indications de Ronchèse, c'est-à-dire en ajoutant 0,1 ccm. pour 3 ccm. de liqueur titrée, d'avoir le chiffre exact. En pratique, nos prises ont été telles que la quantité de baryte titrée utilisée n'a pas dépassé 10 ccm.

En résumé, avec quelques modifications, la méthode au formol permet de doser avec précision de très petites quantités d'azote.

C. — Dosage de l'azote non protéique total.

Ce dosage comprend : 1° la transformation en ammoniaque de l'azote des divers corps azotés par la méthode de Kjeldahl; 2° le titrage au formol de l'ammoniaque après distillation .

Pour la première opération, on introduit dans un ballon Kjeldahl (Pyrex) de 200 ccm. une quantité du liquide étudié

variable suivant sa richesse en azote (25 ccm. pour les liquides cavitaires et d'excrétion — 2,5 ccm. pour les extraits désalbuminés d'organes) et 5 ccm environ d'un mélange à parties égales d'acide sulfurique pur et de solution à 1 0/0 de sulfate de cuivre. On chauffe pendant une durée qui ne doit pas être inférieure à deux heures après la décoloration. S'il arrive que, pendant l'opération, le contenu du matras se prenne en masse, on ajoute, après refroidissement, 5 ccm. du mélange et l'on chauffe de nouveau.

Le liquide sulfurique, après refroidissement, est ensuite additionné d'eau distillée (20 ccm.), de phtaléine, et refroidi de nouveau. On ajoute ensuite de la lessive de soude, en léger excès (1 ccm. environ), le matras étant immergé dans un cristallisoir rempli d'eau froide. Par distillation, on isole l'ammoniaque, qui est recueillie dans quelques ccm. d'HCl N/20 et titrée au formol. Nous avons toujours poursuivi la distillation jusqu'à l'apparition de soubresauts. Dans les liquides très riches en sels minéraux, ils apparaissent de bonne heure; aussi est-il bon d'augmenter la quantité d'eau distillée (40 ccm.).

Par le même procédé, avec quelques modifications, nous avons dosé ainsi l'azote total (protéique et non protéique) des organes ou des liquides.

Pour les organes, on pèse 250 mgr. que l'on introduit dans le ballon avec 5 ccm. du mélange sulfurique. Les opérations sont les mêmes, mais la quantité d'NH^3 étant plus grande, est recueillie dans HCl N/2. La solution est diluée d'une façon convenable, à 50 ou à 100 ccm., dont on prélève seulement une partie (10 ccm.) pour le titrage au formol.

D. — Dosage de l'azote du filtrat et du précipité Ph W.

L'acide phosphotungstique est un réactif qui a été très utilisé en chimie physiologique, pour la séparation des diverses matières azotées.

Pflaundler, le premier, l'a utilisé pour l'étude de la répartition de l'azote urinaire. Chez les invertébrés, Otto v. Furth

a obtenu par l'emploi de ce réactif des renseignements intéressants sur la composition de l'urine d'*Octopus*.

Ajouté en léger excès dans un liquide préalablement acidifié à 5 0/0 de SO^4H^2, le réactif phosphotungstique, qui est ainsi constitué (Morel) :

Acide phosphotungstique très pur. . .	100 gr.
Acide sulfurique à 66°.	70 gr.
Eeau distillée.	Q. S. p. 1 litre.

précipite bien l'ammoniaque, les bases puriques et l'acide urique, les acides diaminés, les peptones et les albumoses, etc.

Par contre, l'urée, les acides monoaminés ne précipitent pas et se retrouvent dans le filtrat. Il était donc intéressant, surtout pour les liquides d'excrétion et les liquides cavitaires, d'effectuer cette séparation. En outre, les dosages de l'azote du précipité et du filtrat PhW peuvent servir à contrôler le dosage de l'azote non protéique total. Il est évident, en effet, que l'N du filtrat plus l'N du précipité PhW doit être égal ou très voisin de l'N non protéique total.

Les liquides à étudier ont été additionnés de SO^4H^2 en quantité convenable pour que leur teneur soit de 5 0/0, et d'un excès de réactif PhW. Comme pour le dosage précédent, les prises ont varié suivant la richesse en azote des liquides. D'une façon générale, la prise a été double de celle de l'azote non protéique total (50 ccm. pour les liquides cavitaires et d'excrétion; 5 ccm. pour les extraits d'organes).

Après agitation, les liquides sont laissés au repos 24 heures On isole par centrifugation le précipité PhW. Après lavage avec SO^4H^2 à 5 0/0, on l'introduit sans en perdre dans un ballon Kjeldhal avec le mélange sulfurique. Les opérations sont les mêmes que précédemment. L'azote du précipité PhW est titré au formol après distillation.

Le dosage de l'azote contenu dans le filtrat PhW se fait de la même façon, après avoir introduit dans un autre ballon les liquides séparés par centrifugation.

Il faut toujours s'assurer que la précipitation des phosphotungstates a été totale, en ajoutant un peu du réactif PhW dans le liquide clair obtenu après centrifugation.

E. — Dosage de l'azote aminé libre et de l'azote volatil titrable au formol.

Sans transformation préalable par le procédé Kjeldhal, l'azote des acides aminés (Sôrensen), l'azote de l'ammoniaque et de quelques amines (Ronchèse) sont directement titrables au formol.

Alors que l'azote aminé est fixe, l'azote de l'ammoniaque et des amines est volatil, de telle sorte qu'il faut tout d'abord séparer exactement l'azote fixe de l'azote volatil par distillation à basse température.

Dans ce but, nous avons utilisé avec de bons résultats le principe de la méthode dite d'aération de Folin (1903), dont s'était déjà servi Boussingault (1850) dans ses recherches sur la quantité d'ammoniaque contenue dans l'urine.

L'appareil dont je me suis servi, dont le dessin se trouve dans la thèse du Dr Brel (Bordeaux, 1921), qui a été faite sous ma direction, se compose : 1° de deux flacons laveurs de Durand, l'un contenant de l'acide sulfurique pour débarrasser l'air qui pénètre dans l'appareil des traces d'ammoniaque, l'autre contenant une solution concentrée de soude pour fixer l'acide carbonique; 2° d'un tube de pyrex de fort calibre, dans lequel on introduit le liquide à étudier, et qui est plongé dans un bain-marie d'eau, qui sera chauffé à 40°; 3° de deux petits flacons laveurs, contenant quelques ccm. d'HCl N/20 destinés à recueillir l'azote volatil; 4° d'une trompe à eau.

En outre, pour empêcher la formation de mousse au cours de la distillation, on interpose entre flacons laveurs de Durand et le tube pyrex un tube en T, relié à un entonnoir à robinet, qui permet l'introduction d'alcool dans le pyrex au cours de la distillation. Enfin, pour éviter le passage d'un peu de mousse,

un tube à boule est placé entre le pyrex et les flacons contenant HCL N/20.

L'expérience nous a montré qu'avec cet appareil la distillation de très petites quantités d'azote volatil (0,1 à 0,5 mgr. environ) est totale, après une heure d'aération, à 40°. Lorsque la quantité d'azote volatil est plus forte (ce dont on est averti par un premier dosage fait immédiatement après une heure), il est nécessaire de continuer l'aération dans les mêmes conditions pendant une deuxième heure. Il suffit alors de changer rapidement les flacons contenant HCl N/20.

Pour déterminer l'azote volatil titrable au formol des extraits désalbuminés des organes, une concentration préalable du liquide n'est pas nécessaire. On introduit directement dans le tube pyrex de fort calibre un volume correspondant à 1 gr. d'organe, soit 25 ccm. le plus souvent. Le liquide est légèrement alcalinisé, en présence de phtaléine, après addition d'une pincée de chlorure de baryum pulvérisé, avec de la baryte en poudre. On ajoute 5 à 10 ccm. d'alcool a 90°, pour éviter la formation de mousse et faciliter la distillation.

L'appareil étant monté, on chauffe le bain-marie à 40° et l'on met en action la trompe à eau, etc.

Les liquides d'excrétion et les liquides cavitaires, ne contenant que très peu d'azote, le dosage de l'azote directement titrable au formol ne peut être effectué avec précision qu'en opérant le dosage sur une bien plus grande quantité de liquide (50 cc. au moins, 100 cc. en moyenne, et quelquefois 200 ccm.). Dans ces conditions, il est nécessaire de leur faire subir une concentration préalable pour les réduire à un volume égal ou inférieur à 20 ccm. On sature tout d'abord l'excès de leur acidité par de la soude à 10 0/0 en présence de phtaléine. Les liquides encore légèrement acides, pour éviter le départ de l'ammoniaque, sont ensuite concentrés au bain-marie à 55°, 60°

Après concentration, le liquide est introduit avec l'eau de lavage dans le tube, et la série des opérations est la même que pour les extraits d organes.

Le titrage au formol de l'azote volatil contenu dans les deux barboteurs contenant HCl N/20 ne présente aucune particularité. L'alcool distillé facilite le dosage, qui ne diffère en rien de ceux que nous avons déjà étudiés.

Le titrage au formol de l'azote fixe contenu dans le liquide du tube pyrex est un peu différent. Par filtration on se débarasse du précipité de phosphates et de carbonates, qui est lavé avec une petite quantité d'eau distillée tiède. Le filtrat est décoloré par addition de quelques gouttes d'HCl N puis N/20, puis ramené à la légère teinte rosée avec quelques gouttes de baryte titrée en présence d'un excès de pthaleine.

Dans le liquide exactement neutralisé on verse un excès de formol (20 cm. environ) puis de la baryte titrée jusqu'à *coloration rouge* suivant les indications de SÖRENSEN, et l'on note le volume de baryte employé. De ce volume, on retranche le volume de baryte titrée nécessaire pour faire apparaître la même coloration rouge dans un témoin où, toutes choses égales, l'on a remplacé le liquide étudié par un volume égal d'eau distillée neutralisée. En moyenne, dans nos essais, ce volume a été de 0,2 ccm.

Il faut enfin s'assurer que la coloration rouge obtenue persiste après une nouvelle addition de formol neutre.

La question qui se pose maintenant est celle de connaître exactement les composés azotés qui sont ainsi titrés au formol, soit comme azote fixe, soit comme azote volatil. Les recherches de SÖRENSEN, dont j'ai déjà donné un résumé dans ma thèse (1910), ont démontré que l'azote de la plupart des acides aminés se titre bien au formol. L'azote fixe renseigne donc surtout sur la teneur des liquides en azote aminé libre, c'est-à-dire appartenant à des acides aminés.

Cependant, il existe, en très petite quantité il est vrai, dans les albumoses et les peptones des groupes aminés directement titrables au formol, de telle sorte que, pour ceux de nos liquides qui contenaient de notables quantités de ces corps, le chiffre obtenu n'est pas parfaitement exact.

En ce qui concerne l'azote volatil titrable au formol, on ad-

met que, pour l'urine humaine, il appartient tout entier à l'azote ammoniacal. Pour les liquides que nous avons soumis à l'analyse, il n'en est probablement pas de même. On sait, en effet, depuis les travaux de CAMBIER et BROCHET (1895) que les sels d'amines primaires réagissent exactement avec le formol comme les sels ammoniacaux, depuis ceux de RONCHÈSE que les sels de diméthylamine exercent une action égale à celle des quatre cinquièmes environ de l'ammoniaque correspondante, et que ceux de triméthylamine n'ont qu'une influence à peu près nulle, due probablement à des traces d'ammoniaque contenues comme impureté.

Nous avons fait quelques essais de séparation de ces corps par le procédé de FRANÇOIS (1907), basé sur l'action de l'oxyde jaune de mercure, qui se combine avec l'ammoniaque, alors que les amines primaires et secondaires ne réagissent pas. Cependant, ces recherches n'étant pas encore assez avancées, nous donnerons seulement dans ce travail le chiffre global de l'N volatil titrable au formol.

F. — DOSAGE DE L'AZOTE AMINÉ COMBINÉ.

Ce dosage n'a pas été fait systématiquement comme le précédent. Cependant, dans quelques cas, il nous a paru intéressant.

On sait que, par hydrolyse, les albumoses et les peptones sont transformés en acides aminés. En déterminant l'azote fixe titrable au formol dans les liquides préalablement soumis à l'hydrolyse on obtient l'azote fixe total, qui comprend l'azote des acides aminés libres plus l'azote des albumoses et des peptones. Connaissant déjà l'azote aminé libre, déterminé avant hydrolyse sur une autre prise, il est facile d'en tirer l'azote aminé combiné, ou azote peptidique, ou azote des albumoses et des peptones.

Divers auteurs se sont préoccupés de déterminer les conditions optima de l'hydrolyse (HENRIQUES et GJALDBÆCK, 1910). Nous avons suivi leurs indications.

Après concentration préalable, ou directement suivant les cas, les liquides sont additionnés d'HCl pur en quantité convenable pour que leur teneur en acide corresponde à celle de HCl 3N., puis portés à l'autoclave à 130° pendant une heure. Par évaporation au bain-marie à 60°, on chasse l'excès d'HCl. Le résidu est repris par 20 ccm. d'eau distillée. Dans le liquide ainsi obtenu on dose l'azote fixe titrable au formol comme précédemment.

Ainsi que nous l'avons déjà signalé (1923), il est possible aussi à l'aide du réactif de Tanret de déterminer approximativement la teneur en albumoses et peptones des liquides en comparant par rapport à une solution témoin de peptones Witte l'intensité du trouble qui se manifeste après refroidissement.

G. — Dosage de l'azote uréique.

L'azote uréique a été titré au formol après transformation en ammoniaque par le procédé Kjeldahl, de sa combinaison avec le xanthydrol. Nous avons tenu compte des recommandations de l'auteur de la méthode R. Fosse (1916) ainsi que de celles de W. Mestrezat et M. Janet (1920).

Après quelques tatonnements, nous avons adopté la technique suivante :

Vu la faible teneur en urée des liquides analysés, une concentration préalable au bain-marie à 60°, en milieu neutre, a été nécessaire. Pour les organes nous avons pris une quantité de liquide correspondant au moins à 2 gr. (50 ccm), pour les liquides cavitaires ou d'excrétion 100 et souvent 200 ccm. Le résidu obtenu après concentration est traité à deux ou trois reprises par de l'alcool à 90°. Les liquides alcooliques sont débarassés par centrifugation des matières en suspension, et évaporés de nouveau au bain-marie à 60°. Le nouveau résidu est repris par 10 ccm. d'acide acétique dilué (2 parties d'acide acédtique, 1 partie d'eau distillée). Le liquide acétique est versé dans un tube à centrifugeur. S'il n'est pas parfaitement clair et limpide, on le débarrasse par centrifugation des ma-

tières en suspension. Dans le liquide clair, on ajoute 2 fois en mélangeant, à dix minutes d'intervalle, 1 ccm. d'une solution limpide à 10 0/0 de xanthydrol pur dans l'alcool méthylique absolu. Le précipité de xanthylurée se forme peu à peu.

Après 4 à 5 heures de condensation, le précipité d'uréine est isolé par centrifugation; on se débarrasse du liquide par siphonage. Le précipité est ensuite lavé, c'est-à-dire mis en suspension dans de l'alcool méthylique (5 ccm.) et de nouveau isolé par centrifugation. La transformation en ammoniaque de l'azote de la dixanthylurée, par la méthode de Kjeldahl, a été faite d'après les indications de R. Fosse, en utilisant comme adjuvant le sulfate mercurique.

On dissout le précipité contenu dans le tube à centrifugation dans un peu de $SO^4 H^2$ pur (1 ou 2 ccm. suivant l'importance du précipité), on ajoute 4 à 5 gouttes de la solution de sulfate mercurique de Denigès et un peu d'eau distillée. On verse le tout et les eaux de lavage dans un ballon Kjeldahl de 200 ccm., et l'on chauffe sous la hotte à 100° jusqu'à décoloration. Le liquide sulfurique refroidi est additionné de 20 ccm. d'eau distillée et de 1 ccm. d'une solution à 20 p. 100 d'hyposulfite de soude afin de précipiter le mercure. Après refroidissement, le liquide est alcalinisé par addition de lessive de soude, etc. Après distillation, l'azote uréique est finalement titré au formol, comme précédemment.

H. — Dosage de l'azote purique.

L'azote purique total comprend, d'une part, l'azote de l'acide urique, et d'autre part, l'azote des bases puriques, dont les principales sont les aminopurines (adénine et guanine) et les oxypurines (hypoxanthine et xanthine).

Deux méthodes permettent d'isoler ces corps sous forme de combinaison spécifique. Par le procédé Salkowski, ils sont isolés à l'état de purates argentico-magnésiens ; par celui de Kruger, à l'état de composés cuivreux.

Nous nous sommes servi le plus souvent de cette dernière méthode ; toutefois, pour les liquides d'excrétion et les liqui-

des cavitaires qui contiennent très peu d'azote, il nous a paru utile d'utiliser comparativement les deux méthodes, afin d'éviter autant que possible les causes d'erreur. Le cas échéant, nous indiquerons la méthode qui a été employée.

Pour doser par le procédé SALKOWSKI l'azote purique contenu dans les liquides d'excrétion ou cavitaires, on prélève 200 ccm. du liquide, que l'on additionne d'un excès d'ammoniaque. Filtrer pour séparer les phosphates alcalino-terreux. Dans le filtrat clair on ajoute 20 ccm. de solution argentico-magnésienne N/10 de DENIGÈS.

Il arrive qu'aucun trouble net ne se manifeste immédiatement, mais en laissant reposer le liquide un temps suffisant (24 heures et plus) il se dépose souvent au fond du vase un précipité, que l'on isole par décantation du liquide surnageant, suivie de centrifugation du liquide contenant en suspension le précipité. Celui-ci est ensuite lavé à l'eau ammoniacale, et isolé de nouveau par centrifugation et décantation. Il est ensuite mis en suspension dans l'eau, et versé, sans en perdre, dans une capsule de porcelaine. Pour chasser complètement l'ammoniaque on ajoute une pincée de magnésie calcinée, et l'on chauffe au bain-marie à 100° jusqu'à forte concentration. Lorsque tout l'ammoniaque est chassé, on verse dans la capsule 3 à 4 ccm. du mélange à parties égales d'acide sulfurique pur et de sulfate de cuivre à 1 p. 100 ; on introduit le tout, y compris les eaux de lavage, dans un ballon Kjeldahl. Après transformation en ammoniaque et distillation, l'azote purique total est finalement titré au formol.

Nous avons fait quelques essais pour isoler par le procédé SALKOWSKI les bases puriques à partir du précipité PhW, mais soit parce que les bases puriques ne précipitent pas entièrement par le réactif PhW (BURIAN et HALL), soit parce que le traitement barytique en retient une partie, les résultats obtenus ont été plus faibles et nous ont paru moins satisfaisants.

La précipitation de composés puriques par le procédé KRUGER a été faite elle aussi directement, sans concentration préalable.

Pour les liquides ne contenant que très peu d'azote total la prise est encore de 200 ccm., que l'on introduit dans une fiole conique. Le liquide est alcalinisé légèrement en présence de phtaléine avec de la soude à 10 p. 100, puis décoloré par addition de quelques gouttes de bisulfite de soude. Filtrer, s'il se forme un trouble ou un précipité. Dans le liquide clair on ajoute en agitant 3 ccm. de solution d'acétate de soude à 10 p. 100, 2 ccm. de la solution commerciale de bisulfite de soude et quelques gouttes de sulfate de cuivre à 10 p. 100. Le liquide contenu dans une fiole conique (pyrex) de 250 ccm. est porté pendant 4 minutes à 100°, pour faciliter la formation des combinaisons cuivreuses.

Le précipité, souvent mélangé à de l'oxydule de cuivre, est isolé par centrifugation, lavé à l'eau bouillante dans le tube à centrifugeur, et isolé de nouveau par centrifugation. On le fait passer ensuite sans en perdre dans un ballon Kjeldahl. Finalement on dose au formol l'azote qu'il contient comme l'azote du précipité argentico-magnésien.

Pour les extraits désalbuminés d'organes, la technique est la même, avec cette différence cependant que, vu la quantité beaucoup plus forte d'azote purique qu'ils contiennent, il suffit d'opérer sur 50 ccm. de liquide, correspondant à 2 gr. d'organe.

L'azote purique ainsi dosé directement, c'est-à-dire sans hydrolyse préalable, est de l'azote purique *libre*. Il eut été certainement intéressant de doser comparativement l'azote purique après hydrolyse contenu dans les extraits désalbuminés, et de déterminer ainsi l'azote purique combiné. Mais ces recherches n'ont pu qu'être amorcées ; elles dépassent d'ailleurs le cadre de ce travail.

I. — Dosage de l'azote de l'acide urique.

La méthode colorimétrique de J.-L. Morris et A.-G. Mac Leod (1922) permet de doser de très petites quantités d'acide urique (0.03 à 0.50 mgr.). Des essais préliminaires nous ayant montré qu'avec quelques modifications de la méthode, on peut

aisément retrouver dans l'eau de mer des traces d'acide urique, et d'autre part, que ce procédé donne de bons résultats avec les extraits d'organes désalbuminés par l'acide trichloracétique, nous l'avons utilisée.

Les réactifs, préparés suivant les indications des auteurs, sont les suivants : 1° le réactif arsénotungstique; 2° une solution de Zn Cl^2 à 2.5 0/0; 3° une solution de CO^3 Na^2 à 10 0/0; 4° une solution d'HCl à 10 0/0; 5° une solution de Na Cy à 10 0/0, enfin une solution étalon d'acide urique contenant 100 mgr. dans 500 ccm. préparée suivant Bénédict et Hitchcock.

Le dosage de l'acide urique dans les extraits d'organe ne présente aucune difficulté. Vu la grande sensibilité de la méthode, il est inutile de concentrer. Un premier essai approché renseigne sur l'absence ou la présence en plus ou moins grande quantité de l'acide urique dans l'organe étudié.

Dans ce but, on introduit dans un tube à centrifugeur 10 ccm. du filtrat, 1 cc. de la solution de Zn Cl^2, puis, goutte à goutte, en mélangeant avec un agitateur la solution de CO^3 Na^2, jusqu'à formation du précipité, qui entraîne l'acide urique. Agiter et centrifuger. Ajouter encore quelques gouttes de CO^3 Na^2 pour s'assurer que la précipitation est complète. Le précipité est isolé par décantation du liquide, dissout dans quelques gouttes de la solution chlorydrique, dilué avec un peu d'eau distillée (5 ccm.), et alcalinisé avec la solution de cyanure (2,5 ccm.), enfin transvasé avec l'eau de lavage dans une éprouvette jaugée de 20 ccm. On complète et l'on ajoute 0,4 ccm. du réactif arsénotungstique. La coloration bleue apparaît rapidement. Si elle est trop intense pour permettre le dosage, le liquide étudié sera auparavant dilué au demi, au cinquième, etc., suivant les cas, les opérations restant les mêmes.

Dans quelques cas il arrive que le liquide se trouble et qu'aucune coloration bleue ne se manifeste. Il ne faut conclure a l'absence d'acide urique, que si, après formation du précipité et nouvelle addition de réactif, le liquide reste incolore.

Le dosage de l'acide urique dans les liquides d'excrétion et les liquides cavitaires présente quelques difficultés. D'une part,

il faut opérer la précipitation sur une quantité plus grande de liquide (20 ccm.); d'autre part, les sels alcalino-terreux précipitent, ce qui gêne le dosage. Il est possible de se débarrasser de ces sels en ajoutant avant l'addition du chlorure de zinc la solution de carbonate de soude au liquide, et en centrifugant, mais le procédé n'est pas recommandable, car les traces d'acide urique que contiennent certains liquides peuvent être retenues par le précipité et échapper ainsi à l'analyse.

Le précipité sera donc obtenu dans les mêmes conditions que précédemment. Dissous ensuite dans la solution chlorydrique, il est additionné d'une quantité double de cyanure de sodium (5 ccm.). Il se forme alors un précipité dont on se débarrasse par filtration. Le filtrat clair est recueilli dans une éprouvette l'on ajoute 0,4 ccm. du réactif arsénotungstique, et plus, si cela est nécessaire.

Il arrive souvent que le liquide se trouble. Au moment du dosage il suffira de centrifuger pour obtenir un liquide clair, comparable au témoin. Le dosage colorimétrique lui-même ne présente rien de particulier. Il a été fait dans le délai d'une demi-heure. J'ai utilisé le colorimètre Moreau et pris soin de faire une série de témoins, afin de pouvoir comparer des liquides dont la coloration soit très voisine.

J. — Dosage du glycogène.

Cherchant à savoir s'il n'existerait pas chez les Invertébrés un rapport entre la formation de glycogène et la formation d'urée, j'ai dosé assez souvent le glycogène dans les extraits désalbuminés des organes, (aussitôt après leur préparation, car le glycogène s'hydrolyse peu à peu, en milieu acide, à l'aide de la technique suivante :

Dans une fiole conique de 100 ccm. on verse un volume du filtrat, correspondant à 1 gr. d'organe (2 ccm. par exemple), 5 ccm. de lessive de soude et 40 ccm. d'alcool à 90°. Décanter après 24 heures et isoler le précipité par centrifugation. Le précipité est lavé à l'alcool et finalement dissous dans 10 ccm.